

**PEMAKNAAN KONSEP AKUNTABILITAS DARI PERSPEKTIF
STAKEHOLDER DI BADAN LAYANAN UMUM UNIVERSITAS
NEGERI JAKARTA**

DISERTASI

**Untuk memenuhi Syarat
Memperoleh Gelar Doktor**



Oleh:

**Indra Pahala
107020302012009**

**PROGRAM DOKTOR ILMU AKUNTANSI
FAKULTAS EKONOMI DAN BISNIS
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah Disertasi dengan judul:

“PEMAKNAAN KONSEP AKUNTABILITAS DARI PERSPEKTIF STAKEHOLDER DI BADAN LAYANAN UMUM UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA”

tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah Disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia Disertasi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 17 Desember 2018
Mahasiswa,

Nama : INDRA PAHALA
NIM : 107020302012009
PS : Doktor Ilmu Akuntansi
PPS FEB UB

RIWAYAT HIDUP

Indra Pahala, Jakarta, 8 Februari 1979 putra dari Bapak Koesno Sastromihardjo dan Ibu Harni, SD sampai SMA di kota Jakarta lulus SMA tahun 1996, studi program S1 Akuntansi di Fakultas Ekonomi Universitas Trisakti lulus tahun 2001, studi program S2 Magister Akuntansi di Fakultas Ekonomi Universitas Trisakti lulus tahun 2005. Pengalaman sebagai Tenaga Pengajar pada Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Jakarta sejak tahun 2008 hingga sekarang

Malang, 17 Desember 2018

Indra Pahala

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya kepada:

- Rektor, Dekan Fakultas Ekonomi dan Bisnis, Ketua Jurusan Akuntansi Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Brawijaya, dan Ketua Program Doktor Ilmu Akuntansi Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk menimba ilmu di Program Doktor Ilmu Akuntansi ini.
- Rektor, Dekan Fakultas Ekonomi dan Koordinator Program Studi S1 Akuntansi Universitas Negeri Jakarta yang telah memberikan rekomendasi kepada peneliti untuk melanjutkan studi sekaligus memberikan bantuan, baik moral maupun material kepada peneliti
- Prof. Dr. Made Sudarma, SE.,Ak.,MM.,CPA, Prof. Dr. Sutrisno T.. SE., Ak., M.Si, Dr. Rosidi, SE., Ak., MM selaku tim promotor yang telah memberikan bimbingan dan motivasi kepada penelii, sekaligus telah banyak mengajarkan ilmu kehidupan.
- Prof. Iwan Triyuwono, SE., M.Ec., Ak., Ph.D, Prof. Eko Ganis Sukoharsono, SE., M.Com(Hons)., Ph.D, Drs. Imam Subekti, Ak., M.Si., Ph.D, selaku tim penguji yang telah memberikan masukan dan meluangkan waktu untuk berdiskusi demi penyempurnaan penelitian ini
- Seluruh rekan Pimpinan, dosen, staf, mahasiswa, alumni Universitas Negeri Jakarta yang telah berkenan menjadi partisipan dalam penelitian ini.
- Rekan-rekan di Program Studi Akuntansi Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Jakarta dan rekan-rekan Program Doktor ilmu Akuntansi Universitas Brawijaya yang telah memberikan semangat kepada peneliti selama menjalani masa studi.
- Terima kasih juga peneliti haturkan kepada Ayahanda (Almarhum Koesno Sastromihardjo), Ibunda (Almarhumah Harni), Kakanda Retno Widyaningrum, Kakanda Nilamsari dan Kakanda Panji Alam.

- Ucapan terima kasih secara khusus peneliti sampaikan kepada istri tercinta Arifanty Kalabat dan ananda Adrian Muhammad Khalid yang selalu memberikan dukungan dan motivasi selama peneliti menjalankan studi,

Atas jasa jasa mereka, peneliti tidak dapat memberikan imbalan yang setimpal, hanya do'a yang dapat peneliti panjatkan kepada Allah SWT, semoga mereka semua senantiasa diberi kesehatan, panjang umur, dan kemudahan segala urusan. Aamiin yaa Rabbalaalammin.

Malang, 17 Desember 2018

Peneliti

ABSTRAK

INDRA PAHALA, Pascasarjana Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Brawijaya. 17 Desember 2018. Pemaknaan Konsep Akuntabilitas dari Perspektif Stakeholder di Badan Layanan Umum Universitas Negeri Jakarta. Promotor : Made Sudarma. Ko-Promotor : Sutrisno dan Rosidi

Penelitian ini bertujuan untuk memahami pemaknaan konsep akuntabilitas dari perspektif stakeholder di Badan Layanan Umum Universitas Negeri Jakarta (BLU UNJ). Penelitian ini menggunakan paradigma interpretif dengan fenomenologi transendental Husserl sebagai alat analisis. Objek penelitian ini adalah Universitas Negeri Jakarta yang memiliki bentuk pengelolaan keuangan Badan Layanan Umum, di mana peneliti memilih dua puluh dua stakeholder sebagai partisipan. Kedua puluh dua stakeholder tersebut dikelompokkan dalam enam grup yaitu pejabat rektorat, pejabat fakultas, pegawai, dosen, dan mahasiswa sebagai stakeholder internal, serta stakeholder eksternal yang diwakili wali murid dan alumni. Dalam proses pengumpulan data, peneliti menggunakan metode wawancara, observasi, dan dokumentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa stakeholder memiliki keragaman sudut pandang dalam memaknai akuntabilitas di BLU UNJ. Di mana para stakeholder yang terlibat cenderung memaknai akuntabilitas sesuai latar belakang jabatan atau posisionalitasnya masing-masing, baik dari kategori stakeholder internal maupun stakeholder eksternal. Hasil penelitian juga menunjukkan adanya perkembangan pemaknaan akuntabilitas dari masa sebelum pengelolaan keuangan BLU ke masa pengelolaan keuangan BLU, di mana pada masa pengelolaan keuangan BLU akuntabilitas dimaknai stakeholder sebagai transparansi, kinerja, dan fleksibilitas yang dijiwai nilai-nilai spiritual atau ketuhanan.

Kata kunci: Akuntabilitas, BLU, Fenomenologi Transendental Husserl, Paradigma Interpretif, dan Universitas Negeri Jakarta.

ABSTRACT

INDRA PAHALA, Doctoral Program in Accounting, Faculty of Economics and Business, Brawijaya University. 2018. **The Understanding of Accountability Concept from the Perspectives of Stakeholders in the Public Service Office of State University of Jakarta**. Promoter: Made Sudarma, Co-Promoters: Sutrisno and Rosidi.

The objective of this study is to understand the definition of accountability concept from the stakeholder's perspectives in the Public Service Office of State University of Jakarta (BLU UNJ). This study uses interpretive paradigm with Husserl's transcendental phenomenology as the analysis tool, conducted at State University of Jakarta, which has a financial management in its Public Service Office. The participants of this study are 22 stakeholders from six groups: university officials, faculty officials, employees, lecturers, and students (internal stakeholders) as well as student's parents and alumni (external stakeholders). The data of this study was collected through interviews, observations, and documentations. The results show that both internal and external stakeholders have different perspectives in understanding accountability at BLU UNJ according to their backgrounds and positions. This study also finds a certain development in their understanding about accountability before and after the financial management of BLU, in which the latter is understood as transparency and flexibility based on spirituality of divinity values.

Keywords: Accountability, BLU, Husserl's transcendental phenomenology I, Interpretive Paradigm, State University of Jakarta

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti haturkan kehadiran Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya peneliti dapat menyajikan tulisan disertasi yang berjudul: “Pemaknaan Konsep Akuntabilitas dari Perspektif Stakeholder di Badan Layanan Umum Universitas Negeri Jakarta”.

Tulisan ini dapat dibagi menjadi empat bagian, yaitu: bagian pertama yang menjelaskan mengenai latar belakang pemilihan topik pemaknaan konsep akuntabilitas dari perspektif stakeholder di BLU UNJ, urgensi penelitian ini, hingga ruang lingkup, rumusan masalah, tujuan, motivasi, dan manfaat yang ingin dicapai, di mana semuanya tertuang pada Bab I. Bagian kedua, berisi penjelasan terkait paradigma, metodologi, beserta metode pengumpulan, pengolahan, dan analisis data yang semuanya tertuang pada Bab II.

Bagian ketiga, membahas mengenai tiga temuan penelitian, yaitu pemaknaan akuntabilitas sebagai pertanggungjawaban dari perspektif stakeholder di BLU UNJ pada Bab III, permaknaan laporan keuangan yang akuntabel dari perspektif stakeholder di BLU UNJ pada Bab IV, serta pemaknaan akuntabilitas sebagai kontrol dan audit dari perspektif stakeholder di BLU UNJ pada Bab V. Bagian terakhir meliputi Bab VI dan Bab VII yang membahas tentang kebaruan penelitian, dengan bahasan setahap demi setahap intersubjektivitas *eidetic reduction* temuan Bab III, Bab IV, Bab V, intersubjektivitas antar tema pemaknaan, novelty statement pada Bab VI, dan ditutup dengan simpulan, saran, dan keterbatasan pada Bab VII.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki peneliti, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu peneliti mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 17 Desember 2018

Peneliti

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
PERNYATAAN ORIGINALITAS DISERTASI	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
 BAB I	
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Urgensi Penelitian Pemaknaan Akuntabilitas dari Perspektif Stakeholder di BLU UNJ	14
1.3. Ruang Lingkup	21
1.4. Motivasi Penelitian	21
1.5. Rumusan Permasalahan Penelitian	22
1.6. Tujuan Penelitian	22
1.7. Kontribusi Penelitian	22
1.8. Struktur Isi Disertasi	23
 BAB II	
FENOMENOLOGI TRANSCENDENTAL UNTUK MENGUNGKAP REALITAS KESADARAN PARTISIPAN	26
2.1. Paradigma Interpretif sebagai Paradigma Pilihan Penelitian	26
2.2. Fenomenologi sebagai Pilihan Metodologi Penelitian	29
2.3. Fenomenologi Transcendental Husserl sebagai Pilihan Metodologi	30
2.4. Teknik Pengumpulan Data	37
2.4.1. Wawancara	37
2.4.2. Observasi	41
2.4.3. Dokumentasi	41
2.5. Teknik Mengolah Data	42
2.6. Teknik Analisis Data	42
 BAB III	
PEMAKNAAN AKUNTABILITAS SEBAGAI PERTANGGUNGJAWABAN DARI PERSPEKTIF STAKEHOLDER DI BLU UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA	46
3.1. Pengantar	46

	3.2. Deskripsi Tekstural Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Pertanggungjawaban di BLU UNJ	47
	3.3. Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Pertanggungjawaban kepada Tuhan di BLU UNJ	51
	3.4. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Pimpinan di BLU UNJ	60
	3.5. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Mahasiswa di BLU UNJ	64
	3.6. Ringkasan	68
BAB IV	PEMAKNAAN LAPORAN KEUANGAN YANG AKUNTABEL DARI PERSPEKTIF STAKEHOLDER DI BLU UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA	70
	4.1. Pengantar	70
	4.2. Deskripsi Tekstural Pemaknaan Laporan Keuangan yang Akuntabel di BLU UNJ	70
	4.3. Laporan Keuangan yang Transparan	74
	4.4. Sumber Daya Manusia Profesional	79
	4.5. Sistem Informasi yang Terintegrasi	81
	4.6. Ringkasan	87
BAB V	PEMAKNAAN AKUNTABILITAS SEBAGAI KONTROL DAN AUDIT DARI PERSPEKTIF STAKEHOLDER DI BLU UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA	89
	5.1. Pengantar	89
	5.2. Deskripsi Tekstural Makna Akuntabilitas sebagai Kontrol dan Audit	89
	5.3. Kontrol dan Audit yang Dilakukan oleh Satuan Pengawas Internal (SPI)	94
	5.4. Kontrol dan Audit yang Dilakukan oleh Auditor Eksternal	101
	5.5. Ringkasan	105
BAB VI	REKONSTRUKSI PEMAKNAAN AKUNTABILITAS DARI PERSPEKTIF STAKEHOLDER DI BLU UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA	106
	6.1. Pengantar	106
	6.2. Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Pertanggungjawaban	108
	6.2.1. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Tuhan	109
	6.2.2. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Pimpinan	112
	6.2.2.1 Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Pimpinan: Kewajiban Penerima Amanah kepada Pemberi Amanah	113
	6.2.2.2. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Pimpinan: Bekerja Secara Profesional	115
	6.2.3. Pemaknaan Pertanggungjawaban kepada Mahasiswa	116
	6.3. Pemaknaan Laporan Keuangan yang Akuntabel	117
	6.4. Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Kontrol dan Audit	119

6.5. Intersubjektivitas <i>Eidetic Reduction</i> antar Sub Tema pada Tema Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Pertanggungjawaban	122
6.6. Intersubjektivitas <i>Eidetic Reduction</i> antar Sub Tema pada Tema Pemaknaan Laporan Keuangan yang Akuntabel	123
6.7. Intersubjektivitas <i>Eidetic Reduction</i> Antar Sub Tema pada Tema Pemaknaan Akuntabilitas sebagai Kontrol dan Audit	124
6.8. Intersubjektivitas <i>Eidetic Reduction</i> Antar Tema	124
6.9. Penutup	125
BAB VII SIMPULAN, SARAN, DAN KETERBATASAN PENELITIAN	129
7.1. Simpulan	129
7.2. Saran	132
7.3. Keterbatasan Penelitian	132
DAFTAR PUSTAKA	134

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Identitas dan Jabatan Partisipan	38
3.1	Pemaknaan Pertanggungjawaban pada Pimpinan	63
6.1	Pemaknaan Stakeholder BLU UNJ Menurut Kategori Cortese	126

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Aktifitas merokok sekarang ini telah menjadi suatu kebiasaan di kalangan masyarakat. Kebiasaan merokok membawa dampak negatif terhadap perokok tersebut dan orang-orang disekitar yang menghirup asap rokok (perokok pasif) (Talbot, 2005). *World Health Organization* (WHO) melaporkan data bahwa wanita mulai merokok di usia 15 tahun (24-27 %) di beberapa negara seperti Amerika, Eropa dan Australia, sedangkan jumlah wanita yang merokok di Asia sekitar 7-17% (Hamad et al, 2012). Negara Indonesia merupakan negara yang menduduki peringkat ketiga di Asia sebagai negara dengan jumlah perokok tertinggi yaitu 28% (65,2 juta jiwa) yang menghabiskan 215 miliar batang rokok per tahun (Haris, 2012)

Berdasarkan data RISKESDAS (2013) perilaku merokok penduduk usia 15, yaitu dari 34,2% (2007), 34,7% (2010) menjadi 36,3 (2013). Data survey Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) dan survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) juga menyatakan bahwa terjadinya peningkatan prevalensi perokok usia 15 tahun yaitu 27% (Susenas 1995), 31,5%(SKRT 2001), 34,4% (Susenas 2004). Meskipun jumlah perokok wanita lebih sedikit dibandingkan pria, namun terjadi juga peningkatan sebanyak 5 kali lipat dari 1,7% (1995) menjadi 6,7% (2013) wanita yang merokok (Kemenkes RI, 2015).

Semakin meningkatnya prevalensi perokok aktif dari tahun ke tahun berdampak pada tingginya angka perokok pasif, *World Health Organization* (WHO) (2004) melaporkan data perokok pasif sebanyak 40% anak-anak, 33% laki-laki bukan perokok dan 35% wanita. Sedangkan menurut GATS (*Global Adult Tobacco*

Survey) Indonesia tahun 2011 menunjukkan sejumlah wanita (usia 15) yang menjadi perokok pasif di Indonesia menunjukkan angka yang tinggi yaitu di tempat kerja (41,2%), di rumah (75%), di gedung pemerintahan (55,7%), di fasilitas kesehatan (16,5%), di tempat makan / restoran (76%), di transportasi umum (62%), di universitas (49%), di sekolah dan fasilitas pendidikan (31,9%), dan tempat ibadah (12,7%).

Empat ribuan bahan kimia terkandung pada asap rokok yang termasuk ke dalam senyawa radikal bebas dan karsinogen (*Wu and Liu*, 2012) seperti gas karbonmonoksida, nitrogen oksida, *hydrogen sianida*, *benzene*, *arsenic*, polikistik aromatic hidrokarbon, *benzo(a)pyren*, nikotin dan *cadmium* yang merupakan *xenobiotik* bagi tubuh yang diketahui mempengaruhi sistem reproduksi (Haris, 2012). Selain itu asap rokok dalam fase tar memiliki kandungan $> 10^{17}$ radikal bebas/ gram dan $> 10^{15}$ radikal bebas/ kali hisapan (Liputo, 2006). Radikal dalam asap rokok diantaranya adalah peroksinitrit, hydrogen peroksida dan superoksida (Argawa *et al.*, 2012).

Radikal bebas dalam asap rokok merupakan radikal bebas eksogen yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Kelly, 2002) dan kerusakan sistem biologis pada tubuh (Argawal *et al.*, 2012). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi dimana ada ketidakseimbangan antara produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan aktivitas dari *scavenger* sebagai pertahanan fisiologis tubuh, di mana jumlah ROS jauh lebih banyak dibandingkan sistem pertahanan tubuh yang terdiri dari antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Peran radikal bebas seperti *superoxide peroksidase* tubuh, seharusnya diimbangi oleh faktor enzim antioksidan, seperti *superoksid dismutase* (SOD), *gluthathione reduktase* *katalase* ataupun antioksidan lainnya. Radikal bebas dari asap rokok juga dapat mengakibatkan kerusakan

oksidatif makro molekul seperti lipid, protein dan DNA yang berdampak pada kerusakan jaringan yang signifikan, jika kerusakan terjadi pada organ reproduksi, maka hal yang akan terjadi adalah infertilitas (Argawal *et al.*, 2012).

Berdasarkan catatan WHO, diketahui penyebab infertilitas pada perempuan di antaranya faktor tuba fallopi 36%, gangguan ovulasi 33%, endometriosis 6%, dan hal lain yang tidak diketahui sekitar 40%. Ini berarti sebagian besar masalah infertilitas pada perempuan disebabkan oleh gangguan pada alat reproduksi atau gangguan pada proses ovulasi (Kumalasari 2012).

Hyland, *et al.* (2015) menganalisa data sebanyak 88,732 wanita di Amerika Serikat antara tahun 1993-1998 pada usia 50-79 tahun. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sekitar 15% wanita perokok pasif mengalami infertilitas selama satu tahun dan sekitar 45% mengalami menopause dini sebelum usia 50 tahun.

Berdasarkan penelitian oleh Hamdan *et al.* tahun 2012 membuktikan bahwa asap rokok dapat menyebabkan efek yang membahayakan, termasuk pada organ reproduksi. Rokok dapat mempengaruhi setiap tahap fungsi reproduksi dan menyebabkan infertilitas (Argawal *et al.*, 2012) serta menopause dini (Connie *et al.*, 2011). Data penelitian menunjukkan bahwa rokok mempengaruhi Folikulogenesis dengan menghambat pertumbuhan folikel (Sadeu dan Foster 2011), meningkatkan apoptosis (Neal 2007), menurunkan volume ovarium, jumlah folikel (Tuttle *et al.*, 2009) serta menyebabkan kerusakan ovarium (Connie *et al.*, 2011). Komponen asap rokok yang menimbulkan stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan DNA pada folikel di ovarium sebagai sumber hormon estrogen (Ganoon *et al.*, 2012). Nikotin menekan pertumbuhan folikel di ovarium yang berakibat pada penurunan kadar hormon estrogen (Andria, 2012). Dampak asap rokok pada sel granulosa juga ditunjukkan oleh Paixao (2012) yaitu asap rokok yang mengganggu pertumbuhan

folikel dan sel granulosa pada ovarium. Penelitian tentang asap rokok kretek meningkatkan kadar *Malondialdehyd* (MDA) ovarium, menurunkan kadar estradiol.

Stres oksidatif yang disebabkan oleh asap rokok juga dapat menghambat pulsasi GnRH melalui *GABAA receptor system*. Terhambatnya pulsasi GnRH akan

menyebabkan gangguan pada sintesis dan sekresi *Follicle Stimulating Hormone*

(FSH) maupun *Luteinizing Hormone* (LH) (Armstrong, 2010). Kedua hormon ini

diperlukan untuk perkembangan gonad pria maupun wanita serta penting untuk

proses spermatogenesis dan oogenesis. Terganggunya fungsi hipotalamus

mengakibatkan gangguan pada fungsi endokrin, termasuk hormon reproduksi

sehingga turut mempengaruhi proses perkembangan folikel (Folikulogenesis)

(Camihort, 2004). Stres oksidatif yang meningkat menyebabkan terjadinya peroksida

lipid. Peroksidasi lipid dapat mengakibatkan gangguan sintesis dan sekresi GnRH

hipotalamus. Kegagalan ini akan menyebabkan kegagalan hipofisis untuk

melakukan sintesis dan sekresi FSH maupun LH. (Kardi, 2015). Dalam hal ini

Antioksidan berinteraksi dengan menstabilkan radikal bebas sehingga mencegah

terjadinya stres oksidatif dalam tubuh. Salah satu bioaktif yang dapat digunakan

sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas adalah *betasianin*. *Betasianin*

merupakan pigmen yang larut air, yang memberi warna merah, ungu dan biru pada

buah buahan, sayuran dan bunga. *Betasianin* juga termasuk ke dalam jenis

polifenol dan grup flavonoid yang mengandung antioksidan (Ramadhan, 2015).

Penelitian oleh Husna (2013) melaporkan bahwa semakin tinggi kandungan

betasianin, maka semakin tinggi efek antioksidannya. Zhao (2013) juga

mengungkapkan bahwa efek antioksidan pada betasianin dari bit merah dapat

meningkatkan ekspresi enzim antioksidan (Indu *at al*, 2017). *Betasianin* yang

terdapat dalam bit merah merah diketahui memiliki efek antiradikal dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Mastuti, *et al.*; 2010).

Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang memiliki radikal bebas. Antioksidan akan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Saat ini, bit tumbuh di banyak negara di seluruh dunia, dikonsumsi secara teratur sebagai bagian dari diet normal, dan biasa digunakan di manufaktur sebagai agen pewarna makanan yang dikenal sebagai E162 (Tom Clifford, *et al.*, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) yang memiliki efek antioksidan diharapkan meningkatkan Kadar FSH dan Folikulogenesis pada Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Asap Rokok

1.2 RUMUSAN MASALAH

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) berpengaruh terhadap peningkatan Kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Betina yang dipapar Asap Rokok

Rumusan Masalah Khusus

Berdasarkan uraian rumusan masalah umum yang dijelaskan diatas, maka masalah yang akan diteliti adalah sebagai berikut :

1. Apakah Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan kadar FSH pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok?

2. Apakah Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok?

3. Apakah ada hubungan antara dosis yang diberikan dengan kadar FSH maupun jumlah Folikulogenesis?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) berpengaruh terhadap peningkatan Kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Betina yang dipapar Asap Rokok

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) terhadap peningkatan kadar FSH pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok.

2. Membuktikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) terhadap peningkatan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok.

3. Mengetahui ada atau tidaknya hubungan dosis yang diberikan dengan kadar FSH maupun jumlah Folikulogenesis.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

1.4.1 Manfaat Ilmiah

Hasil penelitian diharapkan dapat menambah bukti informasi ilmiah mengenai pengaruh Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) berpengaruh terhadap peningkatan Kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Betina yang dipapar Asap Rokok

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk tidak merokok, dikarenakan asap rokok yang dihasilkan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar FSH dan Folikulogenesis pada perokok pasif, serta penelitian ini dapat menjadi dasar untuk penelitian Ekstrak Etanol Bit Merah selanjutnya sebagai makanan proteksi yang dapat dikonsumsi secara aman sebagai makanan proteksi untuk mencegah terjadinya komplikasi pada organ reproduksi wanita yang menjadi perokok pasif.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

Perokok merupakan masalah terbesar di seluruh dunia. Pada tahun 2014 sekitar 5,8 triliun batang rokok dikonsumsi oleh pengguna rokok diseluruh dunia. Diperkirakan 30 % wanita dan 35 % pria menghisap rokok pada usia produktif di Amerika Serikat, serta sebanyak 177 juta wanita di seluruh dunia merokok. Asap rokok mengandung 4000 zat kimia di antaranya dapat mengakibatkan efek toksik, yaitu efek mutagenik dan karsinogenik. Yang termasuk efek toksik dalam asap rokok adalah *polycyclic Aromatic Hidrocarbons*(PAHs), seperti *benzoapylene* (BaP), nitrosamin, logam berat (kadmium), alkaloid (nikotin) dan amina aromatik (Budani & Tiboni, 2017).

Rokok terbuat dari bahan tembakau yang dibungkus dengan kertas, kulit jagung, daun tembakau atau lainnya. Rokok berbentuk silinder panjang antara 70-100 mm (bervariasi tergantung negara) dengan diameter 5-8 mm yang berisi daun-daun tembakau yang telah dicacah. Rokok dibakar pada salah satu ujungnya dan dibiarkan menyala supaya asapnya dapat dihirup lewat mulut pada ujung yang lainnya (Wigand, 2006).

Menurut Haris dkk (2012) ada dua proses pembuatan rokok terdiri dari: Sigaret kretek tangan (SKT) dan Sigaret Kretek Mesin (SKM). Sigaret kretek tangan (SKT) adalah proses pembuatan rokok menggunakan tangan dengan cara digiling atau dilinting dengan tangan. Sedangkan Sigaret kretek mesin adalah proses pembuatan rokok menggunakan mesin, dengan memasukkan bahan baku kedalam mesin pembuat rokok dan menghasilkan rokok batangan. Jenis-jenis bahan baku rokok,

yaitu rokok putih berbahan baku daun tembakau yang diberi saus, rokok kretek mengandung daun tembakau dan cengkeh, dan rokok klembak berbahan baku daun tembakau, cengkeh, dan kemenyan.

Asap rokok sangat berbahaya terhadap sistem kesehatan reproduksi wanita.

Paparan asap rokok dapat mempengaruhi steroidogenesis, follikulogenesis, perkembangan embrio, dan implantasi. Efek toksik menunjukkan bahwa asap rokok dapat menurunkan fungsi tuba, endometrium dan pada angiogenesis endometrium.

Perokok aktif menunjukkan berhubungan dengan terjadinya kemandulan dan onset menopause dini (Budani & Tiboni, 2017).

Didalam asap rokok terkandung berbagai bahan-bahan kimia yang berbahaya meliputi nikotin, kotonin, sianida, tiosianat, karbonmonoksida, kadmium, timbal, serta berbagai macam hidrokarbon yang kompleks (Cunningham *et al*, 2005).

2.1.1 Komponen Rokok

Rokok adalah salah satu produk tembakau yang dibakar dan dihisap dan/ dihirup asapnya. Jenis-jenisnya yaitu rokok kretek, rokok putih, cerutu, atau bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *nicotiana tabacum*, *nicotiana rustica*, dan spesies lainnya atau sintesisnya yang asapnya mengandung nikotin, tar, karbon monoksida dan lain-lain. Produk tembakau adalah suatu produk secara keseluruhan atau sebagian terbuat dari daun tembakau sebagai bahan bakunya yang diolah untuk digunakan dengan cara dibakar, dihisap lalu dihirup (PPRI, 2012).

Asap rokok mengandung sekitar 4000 senyawa kimia yang berbahaya yang bersifat toksik bagi kesehatan manusia, diantaranya *benzo(a)pyrena*, nitrosamin, kadmium, nikotin (Dechanet *et al*, 2011), tar, karbon monoksida, nikel amoniak dan sebagainya (Cunningham, 2005; Kinanti dkk, 2016). Nikotin adalah zat atau

senyawa *pyrrolidine* terdapat dalam rokok bersifat adiktif dapat mengakibatkan ketergantungan bagi perokok. Nikotin menyebabkan penyempitan pembuluh darah termasuk pembuluh darah koroner yang memberi oksigen pada jantung dan penggumpalan sel darah. Komponen tar adalah kondensat asap merupakan total residu dihasilkan pada saat rokok dibakar setelah dikurangi nikotin dan air yang bersifat karsinogenik yang dapat menyebabkan penyakit kanker (PPRI, 2012).

Paparan asap rokok dibagi kedalam 2 sifat yaitu, aktif dan pasif, dan jenis asap rokok yang terhirup memiliki asal yang berbeda. Perokok aktif adalah perokok utama yang menghirup asap pada setiap hembusan, sedangkan perokok pasif merupakan asap rokok sampingan (*sidestream*) yang dihirup pada saat perokok utama membakar, menyalakan dan asapnya yang dihirup oleh perokok pasif (Talbot and Riveles, 2005).

Menurut Tritosastro dan Murdiyati (2010), aliran asap rokok dibagi kedalam 2 kelompok yaitu, aliran rokok pada saat dihisap (*main stream*) dan aliran rokok pada saat tidak dihisap (*sidestream*). Alat yang digunakan untuk menganalisa komponen kimia asap rokok yaitu *smoking machine* dan dilengkapi dengan filter *cambridge* untuk menangkap kondensat asap rokok. Pengukuran zat-zat kimia dari asap rokok dibagi dua:

1. Asap yang tertangkap filter *cambridge* pada saat rokok dihisap *smoking machine* sebagai kondensat asap. Kondensat asap ini disebut total *particulate matter* (TPM), komponen utamanya adalah air, nikotin, dan tar. Kondensat kering, adalah TPM setelah dikurangi air, sedangkan tar adalah TPM setelah dikurangi air dan nikotin.
2. Asap yang lolos dari filter *cambridge* pada saat rokok dihisap *smoking machine* dan asap yang keluar saat tidak dihisap atau asap samping (*sidestream*).

Komponen kimia di dalam asap ini yaitu *benzo(a)pyrine (BaP)* dan *tobacco spesific nitrosamine(TSNA)*.

2.1.2 Fase Rokok

Kandungan asap rokok terdapat fase rokok, ada 2 fase rokok, yaitu:

1. Fase gas

Fase gas adalah berbagai macam gas berbahaya yang diproduksi oleh asap rokok (Greabu et al, 2007). Fase gas asap rokok meliputi nitrogen (N_2), oksigen (O_2), *Carbon dioxide* (CO_2), *Carbon oxide* (CO), *asetaldehida*, *metana*, *hidrogen sianida* (HCN), *asam nitrat*, *aseton*, *akrolein*, *amonia*, *metanol*, *hidrogen sulfida* (H_2S), *hidrokarbon*, *nitrosamin fasa gas*, dan *senyawa karbonil* (Rockville, 2010).

2. Fase tar

Fase tar adalah bahan yang terserap dari penyaringan asap rokok (Greabu et al, 2007). Fase ini terdiri dari *bensopirin*, *dibensakridin*, *dibensokarbasol*, *piren*, *fluoranten*, *hidrokarbon aromatik*, *polinuklear*, *naftalen*, *nitrosamin* yang tidak mudah menguap, *nikel*, *arsen*, *nikotin*, *alkaloid tembakau*, *fenol* dan *kresol* (Rockville, 2010).

Komponen tar dapat larut air sehingga menghasilkan *anion superoksida*, *hidroksil reaktif* dan H_2O_2 yang dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada lipid membran sel, protein, enzim dan DNA.

2.1.3 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Organ Reproduksi Wanita

Pengaruh paparan asap rokok tidak hanya beresiko terhadap perokok itu sendiri (perokok utama), namun beresiko terhadap non perokok (perokok pasif) yang berada disekitar perokok utama yang memberi efek negatif pada kesehatan reproduksi. Pengaruh paparan asap rokok menyebabkan stres oksidatif di endometrium sehingga menghambat proliferasi sel melalui jalur *nitrit oksid*

mengakibatkan terjadi gangguan siklus menstruasi. Selain itu nikotin, karbonmonoksida dan *benzo(a)pyrene* juga menurunkan proliferasi sel di endometrium, yang berakibat terjadi penurunan ketebalan endometrium (Khorram *et al*, 2010). Kandungan *benzo(a)pyrene* dalam asap rokok mempengaruhi penurunan hormon estradiol menyebabkan hilangnya atau menurunnya pertumbuhan sel follikel di ovarium melalui apoptosis (Tuttle *et al*, 2009).

Penelitian oleh Ratnawati *et al* (2014), pemberian alpha *tocopherol* pada tikus betina yang dipapar asap rokok, terbukti dapat mencegah stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya hormon estrogen dan ketebalan endometrium. Selain itu pigmen antosianin dari ubi jalar ungu terbukti efektif mencegah stres oksidatif dengan meningkatnya ekspresi reseptor estrogen alpha dan ketebalan endometrium pada tikus betina yang dipapar asap rokok. Penulis berasumsi bahwa hal tersebut dapat mencegah terjadinya infertilitas (Utami, 2016).

Penelitian menunjukkan, kandungan nikotin dalam asap rokok menyebabkan terjadinya stres oksidatif sehingga reseptor estrogen dan progesteron menurun signifikan dan ekspresi VEGF meningkat. Hormon estrogen dan progesteron berperan penting dalam fungsi endometrium dimana hormon-hormon tersebut dimediasi melalui jalur parakrin dan autokrin pada sel epitel endometrium. Sedangkan ekspresi VEGF banyak terdapat pada sel stroma endometrium. Hormon steroid (estrogen dan progesteron), dan VEGF mengatur pembentukan pembuluh darah baru yang berfungsi meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan endometrium (Totonchi *et al*, 2016).

2.2 Infertilitas

Infertilitas adalah gambaran kegagalan untuk hamil atau melahirkan anak selama 12 bulan atau lebih dan secara teratur pasutri melakukan hubungan suami istri tanpa menggunakan alkon (Sudha dan Reddy, 2013). Infertilitas dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yakni infertilitas primer dan infertilitas sekunder. Infertilitas primer adalah pasangan usia subur yang belum pernah mengalami kehamilan tanpa menggunakan alat kontrasepsi apapun dengan prevalensi 38 %, sedangkan infertilitas sekunder merupakan pasangan usia subur yang tidak mampu mempertahankan kehamilan sampai persalinan selama 12 bulan atau lebih dengan prevalensi 62 % (Alhassan *et al*, 2014).

Menurut WHO, infertilitas adalah masalah kesehatan reproduksi yang mempengaruhi 8-10 % pasangan reproduktif didunia. Prevalensi infertilitas di Amerika 50-80 juta orang, sedangkan di Eropa sekitar 14 % terjadi infertilitas. Prevalensi infertilitas di Asia yaitu 30,8% di Kamboja, 10% di Kazakhtan, 43,7% di Turkmenistan, dan 21,3% di Indonesia (POGI, 2013). Menurut Raupa *et al* (2009) penyebab infertilitas belum diketahui secara pasti 24.5 %, penyebab infertilitas pada wanita reproduktif adalah kelainan pada saluran tuba 27.4 %, gangguan menstruasi 20 %, kelainan pada rahim 9.1 %, kelainan seksual 2.7 %, faktor usia 2.7 % dan perokok 45.5 %.

2.3 Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas adalah molekul atom yang tidak mempunyai pasangan elektron pada orbit atom. Radikal bebas yang tidak stabil akan menarik molekul pasangan elektron yang lain. Stres oksidatif terjadi ketidakseimbang antara ROS (radikal bebas) dan oksidan. Stres oksidatif dapat menimbulkan kerusakan lipid, protein, dan asam nukleat. Stres oksidatif jangka pendek dapat terjadi pada jaringan

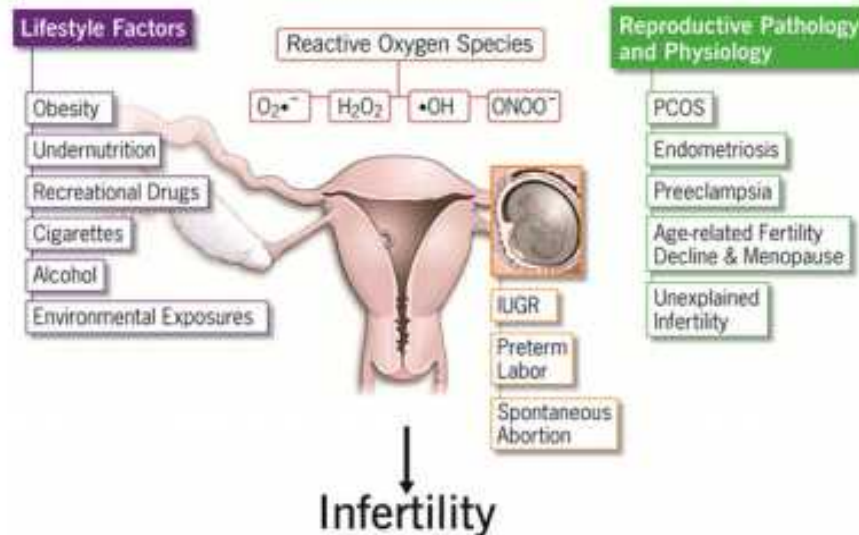
yang mengalami trauma, infeksi, inflamasi, hipoksia, toksis, dan olahraga berlebihan.

Enzim yang banyak menghasilkan radikal bebas yaitu *xanthine oxidase*, *lipogenase*, *cyclooxygenase* melalui aktivasi fagosit melepaskan ion-ion tembaga, terjadi gangguan pada rantai transpor elektron dari fosforilasi oksidatif, sehingga produksi ROS berlebihan (Lobo *et al*, 2010).

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah sekumpulan molekul elektron yang tidak berpasangan yang diturunkan oksigen merupakan spesies radikal sangat reaktif, yang terdiri dari *superoksida* ($O_2^{\cdot-}$), *hidroksil* (OH^{\cdot}), *peroksil* (RO^{\cdot}). Sedangkan molekul reaktif yang bersifat non radikal meliputi *asam hipoklorida* ($HOCl$), ozon, oksigen *singlet*, dan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang secara biologis sangat relevan. ROS yang dihasilkan harus seimbang dengan antioksidan, namun bila produksi ROS tidak seimbang maka akan menjadi pro oksidan, bila produksi ROS berlebihan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif, sehingga akan menimbulkan penyakit pada manusia dan penuaan (Hecht *et al*, 2016).

Peran stres oksidatif pada siklus endometrium disebabkan oleh ekspresi superoksida dismutase (SOD). Superoksida dismutase merupakan enzim yang terlibat memungut radikal bebas dan melindungi sel-sel yang toksis. Pada fase sekretorik akhir SOD dan ROS meningkat pada siklus menstruasi. Hormon estrogen menyebabkan peningkatan ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) dan prostaglandin di sintesis pada sel endometrium. Selain itu ekspresi VEGF menurun yang disebabkan oleh perubahan pembuluh darah ke endometrium sehingga menimbulkan angiogenesis endometrium (Argawal *et al*, 2012).

Oxidative Stress



Gambar 2.1 Stres oksidatif terhadap organ reproduksi wanita.

Keterangan: Infertilitas terjadi karena faktor gaya hidup khususnya paparan rokok. Paparan asap rokok dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif sehingga ROS meningkat. Sistem organ reproduksi wanita dapat mengganggu kesehatan diantaranya PCOS, endometriosis, menopause dini (Argawal et al, 2012).

2.4 Antioksidan

Untuk menetralkan ROS dalam tubuh maka dibutuhkan antioksidan.

Antioksidan yaitu senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker dan penuaan dini.

Antioksidan diperlukan tubuh untuk menghambat radikal bebas dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas pada sel normal, protein, dan lemak.

Antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Mekanisme pertahanan terhadap tubuh terhadap radikal, sebagai berikut: antioksidan endogen adalah antioksidan yang sudah ada di dalam tubuh, antara lain *superoksida dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), *catalase* (CAT).

Sedangkan antioksidan eksogen atau dikenal dengan antioksidan non-enzimatik merupakan antioksidan sintetis dan antioksidan alami yang berasal dari luar tubuh ataupun buatan. Yang termasuk antioksidan sintetis yaitu, *Butylated Hydroxy Anisole*, *Butylated Hydroxy Toluene*, *Propyl Galat*, dan *Tert Butyl Hidrikuinon*. Dalam keadaan normal, terjadi keseimbangan antara kedua antioksidan dalam aktivitas dan kadar intraseluler. Keseimbangan ini sangat penting untuk kelangsungan hidup dan kesehatan organisme (Valko *et al.*, 2007).

Menurut Lobo *et al* (2008), menyebutkan ada dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan enzimatik dan antioksidan non enzimatik. Antioksidan enzimatik merupakan superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), Glutathione peroksida (GPx), yang menyebabkan reduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan alkohol. Sedangkan antioksidan non enzimatik yaitu antioksidan yang dikenal dengan antioksidan sintetis (buatan), diantaranya vitamin C, vitamin E, Karoten dan -karoten, selenium, Zinc, *taurine*, *glutathione* dan lain-lain.

2.5 Ovarium

2.5.1 Definisi Ovarium

Ovarium adalah sepanjang organ berbentuk buah kenari yang mempunyai panjang sekitar 1,5 inci atau 4 cm, lebar 1,5 cm dan tebal 1 cm, terletak di kiri dan kanan, dekat pada dinding pelvis di fossa ovarika. Ovarium melekat pada lapisan belakang ligamentum latum dengan mesovarium. Selain mesovarium, ovarium juga mempunyai dua perlekatan lain, ligamentum infundibulopelvikum (ligamentum suspensorium ovarii), yang menghubungkan ovarium dan uterus (Ellis, 2006).

Figure 26-14 The Ovaries and Their Relationships to the Uterine Tube and Uterus. *ATLAS: Page 67*



1. *Germinal Epithelium* atau epitel germinativum adalah selapis jaringan ikat gepeng atau selapis kuboid yang menutupi permukaan ovarium (*Junqueira*, 2002).

3. *Ovarian Cortex* atau daerah korteks terletak dibawah tunika albuginea, merupakan daerah yang terutama di tempati folikel ovarium dan oositnya. Folikel

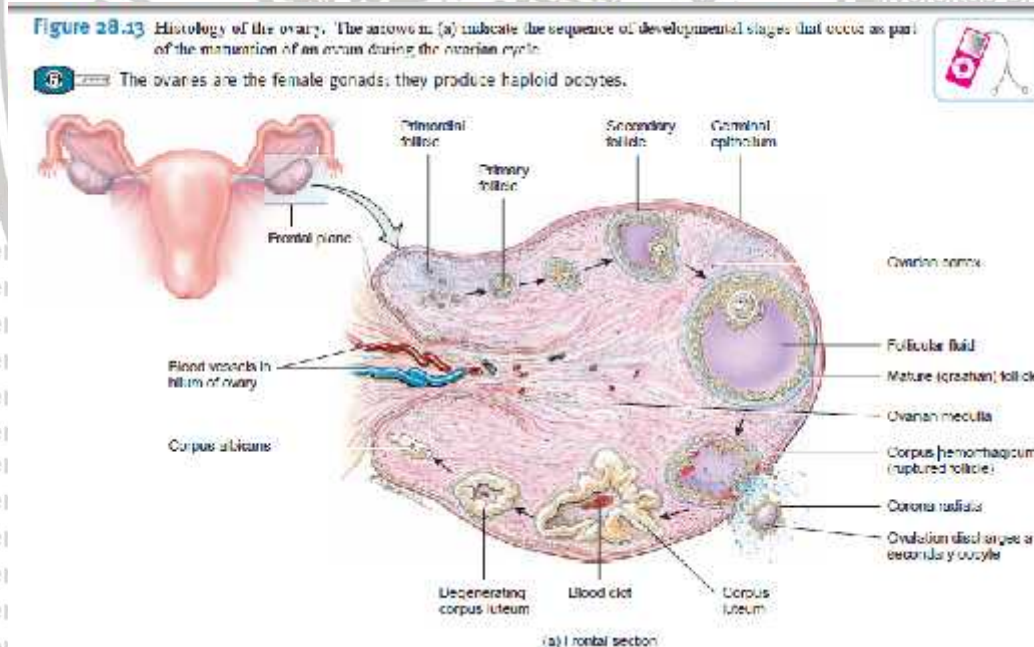
ini terbenam dalam jaringan ikat (stroma) didaerah korteks. Stroma ini terdiri atas fibroblas berbentuk kumparan khas yang berespon dengan berbagai cara terhadap rangsangan hormone dari fibroblast organ lain (*Junqueira*, 2002).

4. *Ovarian Medulla* atau daerah medulla yang terletak dibawah daerah korteks, merupakan bagian terdalam ovarium. Tidak ada batas tegas antara daerah korteks dan medulla, tetapi daerah medulla tersusun dari jaringan ikat longgar dan berisi pembuluh darah, pembuluh limfe dan syaraf (*Junqueira*, 2002).

5. *Ovarian Follicles* atau folikel ovarium terdapat di daerah korteks dan terdiri dari oosit yang dikelilingi oleh satu atau lebih sel folikel, atau sel granulose. Ketika sel folikel membentuk selapis sel kuboid, folikel ini sekarang disebut flikel primer unilaminar. Sel folikel terus berproliferasi dan membentuk epitel folikel berlapis, atau lapisan granulose, dengan sel-sel yang saling berkomunikasi melalui taut rekah. Folikel ini disebut folikel primer multilaminar atau preantrum. Sewaktu folikel tumbuh, terutama karena sel granulose bertambah besar dan bertambah banyak, folikel ini berpindah ke daerah korteks yang lebih dalam. Cairan (*liquor folliculi*) mulai mengumpul diantara sel-sel folikel. Celah-celah kecil yang mengandung cairan ini menyatu, dan sel-sel granulose mengatur diri membentuk rongga yang lebih besar, yaitu antrum. Folikel ini sekarang disebut folikel sekunder atau folikel antrum (*Junqueira*, 2002).

6. *Mature (Graafian) Follicle* atau folikel matang, pra-ovulasi, atau folikel De Graf, sangat besar (berdiameter sekitar 2,5 cm) sehingga dapat menonjol dari permukaan ovarium dan dapat dideteksi dengan ultrasonografi. Folikel ini merupakan folikel dominan yang dapat mengalami ovulasi dan biasanya hanya satu untuk setiap siklus menstruasi. Sedangkan folikel lainnya mengalami atresia (*Junqueira*, 2002).

7. *Corpus Luteum* atau korpus luteum (badan kuning) merupakan folikel matang setelah ovulasi. Korpus luteum menghasilkan progesterone, estrogen, relaxin dan inhibitin akibat rangsangan LH(*Luteinizing Hormone*). Nasib korpus luteum ditentukan oleh ada tidaknya kehamilan. Setelah ditangsang LH, korpus luteum terprogram untuk bersekresi selama 10-12 hari. Jika tidak ada rangsangan hormon lain dan tidak ada kehamilan, sel-sel korpus luteum akan berdegenerasi melalui apoptosis. Fibroblas di dekatnya memasuki daerah ini akan membentuk parut jaringan ikat padat yang disebut korpus albicans atau badan putih (karena banyaknya kolagen) (Junqueira, 2002).



Gambar 2.3. Histologi Ovarium (Tortora et al., 2009)

2.5.2 Fisiologi Ovarium

2.5.2.1 Fisiologi Hipotalamus-Hipofisis

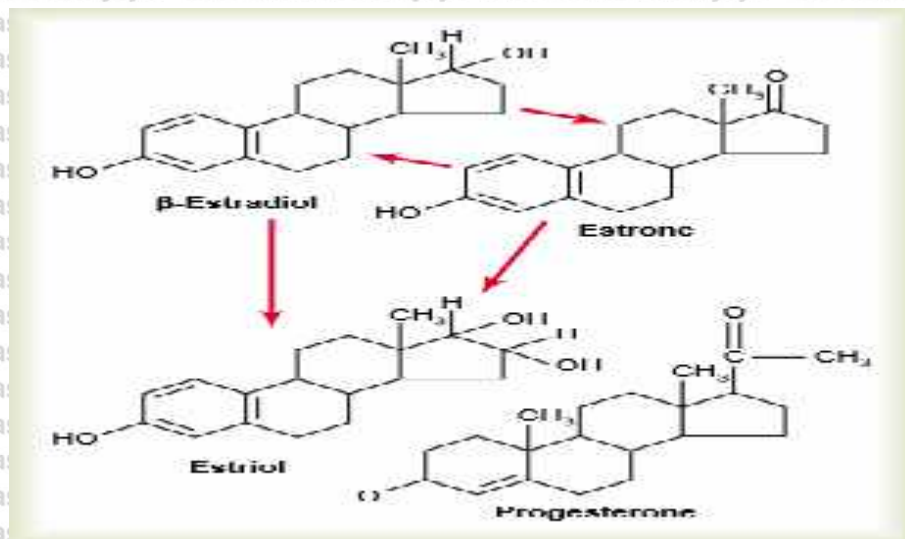
Sistem saraf pusat dihubungkan dengan hipofisis melalui hipotalamus. Hubungan ini adalah hubungan yang paling nyata antara sistem saraf pusat dengan sistem endokrin. Kedua sistem ini saling berhubungan baik melalui hubungan syaraf maupun vaskuler. Pembuluh darah menghubungkan hipotalamus dengan sel-sel kelenjar hipofisis anterior. Pembuluh darah ini berakhir sebagai kapiler pada kedua ujungnya, oleh karena itu dikenal sebagai sistem portal. Dalam hal ini, sistem yang menghubungkan hipotalamus dengan kelenjar hipofisis disebut sebagai sistem portal hipotalamus-hipofisis (Guyton, 2008).

Sistem portal ini merupakan saluran vaskuler yang penting karena memungkinkan pergerakan hormon pelepas dari hipotalamus ke kelenjar hipofisis, sehingga memungkinkan hipotalamus mengatur fungsi hipofisis. Rangsangan yang berasal dari otak mengaktifkan neuron dalam nucleus hipotalamus yang mensintesis dan mensekresi protein yang dikenal sebagai hormon pelepas atau hormon penghambat. Hormon-hormon ini dilepaskan ke pembuluh darah sistem portal dan akhirnya mencapai sel-sel dalam kelenjar hipofisis. Kelenjar hipofisis memberi respon terhadap hormon pelepas dengan melepaskan hormon *tropic hipofisis*. Dalam rangkaian kejadian ini, hormon-hormon yang dilepaskan oleh kelenjar hipofisis diangkut bersama darah dan merangsang kelenjar-kelenjar lain, menyebabkan pelepasan hormon-hormon kelenjar sasaran. Akhirnya hormon-hormon kelenjar sasaran berkerja pada hipotalamus dan sel-sel hipofisis yang mengatur sekresi hormon. Modalitas pengaturan umpan balik, tempat produk hormonal dan kelenjar sasaran, berkerja menghambat pelepasan hormon tropik hipofisis yang berkaitan. Pengaturan sekresi hormon jenis ini dikenal sebagai sistem

pengaturan umpan balik negatif. Secara sederhana dapat dikatakan umpan balik terjadi jika keluaran suatu sistem melawan perubahan masukan. Umpan balik negatif mempertahankan konsentrasi plasma suatu hormon dalam kadar tertentu (Guyton, 2008).

2.6 Estrogen dan Reseptor Estrogen

Hormon estrogen merupakan hormon yang sangat penting dalam kematangan organ-organ reproduksi wanita dan siklus menstruasi. Hormon estrogen adalah hormon golongan steroid yang disintesis dari kolesterol. Terdapat dua jenis hormon ovarium yaitu estrogen dan progesteron. Hormon estrogen merupakan hormon yang paling penting untuk organ reproduksi wanita dan dalam siklus menstruasi. Estrogen berfungsi untuk proliferasi dan pertumbuhan sel dalam tubuh yang bertanggung jawab untuk perkembangan ciri-ciri seksual sekunder wanita. Progesteron berfungsi untuk mempersiapkan kehamilan dalam rahim dan payudara untuk menyusui. Pada wanita tidak hamil estrogen diproduksi oleh ovarium, sedangkan pada wanita hamil estrogen diproduksi oleh plasenta. Hormon estrogen mempunyai 3 tipe dalam tubuh wanita, yaitu estradiol, estriol, dan estron (Guyton, 2006).



Gambar 2.4 Tipe-tipe Estrogen

Keterangan: Tipe Estrogen ada tiga macam, yaitu estron, 17 estradiol, dan estriol (Guyton, 2006).

Mekanisme estrogen hormon terjadi melalui protein reseptor intraseluler.

Mekanisme tersebut meliputi: 1) Difusi hormon steroid melintasi membran sel, 2) hormon steroid yang mengikat protein reseptor, 3) Interaksi reseptor hormon dengan DNA, 4) sintesis RNA ke mRNA, 5) Transport mRNA ke ribosom, 6) sintesis protein di sitoplasma yang menghasilkan aktivitas seluler tertentu. Hormon steroid seks yaitu hormon estrogen, progestin, dan androgen. Estrogen dan progestin ditransfer melalui membran sel dan mengikat reseptornya di dalam nukleus. Reseptor estrogen ada dua reseptor yaitu reseptor estrogen dan . Waktu paruh reseptor estrogen kira-kira 4-7 jam, sehingga reseptor estrogen berputar dengan cepat (Speroff & Fritz, 2005).

Perbandingan khasiat dari ketiga jenis hormon estrogen tersebut adalah E2:

E1:E3 = 10:5:1. Estradiol dianggap paling poten karena potensi estrogenik estradiol 12 kali lebih besar daripada estron dan 80 kali lebih besar daripada estriol.

Oleh karena itu, -estradiol dianggap sebagai estrogen utama, walaupun efek

estrogenik dari estron dan estriol tidak dapat diabaikan. Estradiol merupakan estrogen utama yang diproduksi di ovarium, tetapi juga di produksi secara lokal di jaringan adiposa (adrenal, plasenta, testis, jaringan lemak) dan SSP dalam jumlah kecil (Speroff & Fritz, 2005).

Hormon estrogen membutuhkan reseptor untuk berikatan dengan DNA dan mengatur ekspresi gen di inti sel. Estrogen dapat berfungsi jika menempel pada reseptornya, reseptor estrogen terdapat di dalam sel. Estradiol mempunyai kemampuan yang lebih tinggi untuk berikatan dengan reseptor dibandingkan dengan estron dan estriol. Aktivitas estriol lebih rendah karena bentuk konformasinya berubah ketika dikombinasikan dengan reseptor estrogen dibandingkan dengan estradiol (Speroff & Fritz, 2005).

Reseptor estrogen bekerja mengkode protein yang berfungsi sebagai reseptor estrogen, yaitu ligan mengaktifasi faktor transkripsi beberapa domain penting sebagai tempat berikatan dengan hormon. Protein yang dihasilkan terlokalisasi pada nukleus, baik estrogen maupun reseptornya merupakan faktor penting dalam pertumbuhan dan fungsi dari organ reproduksi (Gruber *et al.*, 2002).

Untuk dapat berikatan dengan reseptornya, estrogen harus melewati permukaan sel dan masuk kedalam sel (sitoplasma) selanjutnya berikatan dengan reseptor estrogen di sitoplasma dan membentuk ikatan hormon reseptor pada Estrogen Responsive Element (ERE) yang kemudian bergerak menuju inti sel untuk berikatan dengan DNA. Setelah berikatan dengan DNA maka akan terjadi proses transkripsi untuk membentuk protein-protein khusus yang diperlukan dalam pembelahan sel (Speroff & Fritz, 2005).

Struktur dan molekul estrogen adalah sebagai berikut: (1) N terminal region (A/B domain), bersifat sangat variasi dalam urutan dan panjanga asam amino,

tempat berinteraksi antara protein dengan co-aktivator dan urutan transkripsi protein. Domain ini mempunyai homologi antara RE- dan RE- kurang dari 18%. (2) C domain, tempat DNA binding, bersifat spesifik, tempat terjadinya dimerisasi dari reseptor inti, homologi antara reseptor dan sekitar 97%. Struktur molekulnya terdiri dari zinc yang berperan penting sebagai reseptor pengikat dua molekul identik dan modelnya lebih sederhana. DNA binding domain pada RE- dan RE- bersifat homolog, dengan demikian RE- dan RE- dapat mengikat pada berbagai Estrogen Responsive Element (ERE) dengan spesifitas dan afinitas yang sama. (3) D domain, berfungsi sebagai engsel, menyediakan kemampuan struktur 3 dimensi antara domain E dan C. Merupakan region antara DNA binding domain dengan hormon binding domain. (4) E domain, struktur molekulnya merupakan terminal carboxy (-COOH). Pada RE- struktur ini terdiri dari 251 asam amino. E domain memiliki lokasi yang bertanggung jawab untuk *dimerization* dan mengandung *Transcription Activation Function* yang disebut TAF-2. (5) F domain, yang mengatur transkripsi gen oleh estrogen dan antiestrogen, memiliki peran dalam mengubah kemampuan transkripsi bahan-bahan antiestrogen. F region mempengaruhi aktivasi dari TAF-1 dan TAF-2 (Speroff & Fritz, 2005).

2.7 Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

Bit merah disebut juga *Beetroot* (*Beta vulgaris L*) merupakan sejenis sayuran yang mudah didapat, murah dan berasal dari Australia (Mereddy *et al*, 2016). Di Indonesia umbi bit sudah mulai banyak di kembangkan, khususnya di Pulau Jawa terutama di daerah dataran tinggi seperti di Cipanas, Lembang, Pengalengan, Batu, dan Kopeng (Yuwono, 2016). Ada 2 macam *Beta vulgaris L*), yaitu *Beta vulgaris cicla* dan *Beta vulgaris rubra* adalah sayuran dari keluarga *Chenopodiaceae*, yang banyak dikonsumsi dalam setiap masakan. Bit dapat hidup di tanah dataran tinggi

dengan bahan organik langka dan sedikit cahaya dan air. Dalam Farmakologi menunjukkan bahwa pelarut *Beta Vulgaris Cicla* sebagai pengobatan antihipertensi dan hipoglikemik serta memiliki antioksidan yang sangat tinggi. *Beta Vulgaris Cicla* mengandung apigenin flavonoid, yaitu *vitexin*, *vitexin-2-O-rhamnoside* dan *vitexin-2-O-xyloside*, yang menunjukkan aktivitas antiproliferaatif pada sel kanker. *Beta Vulgaris Rubra* mengandung metabolit sekunder, yang disebut betalain dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam industri pangan dan sebagai antikanker (Ninfali & Angelino, 2013). *Beta vulgaris L* yang mempunyai panjang batang 1-2 meter, daunnya berbentuk hati dengan panjang 5-20 cm, bunganya tebal dan buahnya seperti kacang polong keras (Miraj, 2016).

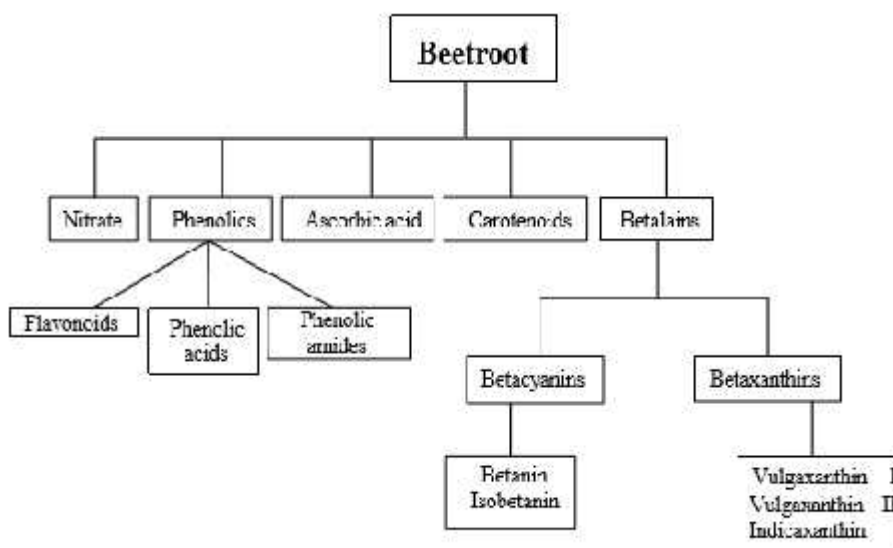


Gambar 2.5 Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

Keterangan: Bit merah (*Beta vulgaris L*) adalah tanaman yang berbentuk rumput mempunyai batang sangat pendek dan akar tunggangnya tumbuh menjadi umbi dan daunnya tumbuh mengumpul pada leher akar tunggal (pangkal umbi), serta berwarna kemerahan. Umbi bit berbentuk bulat atau menyerupai gasing dan lonjong (Kumar *et al*, 2016).

Zat gizi yang terkandung dalam bit merah adalah kalium 14.8 %, serat 13.6 %, vitamin c 10.2 %, magnesium 9.8 %, zat besi 7.4 %, tembaga 6.5 %, fosfor 6.5 % dan triptofan 1.4 % (USDA, 2013). Bit Merah memiliki sumber senyawa fitokimia terdiri dari asam askorbat, karotenoid, asam fenolik dan flavonoid. Bit merupakan

jenis sayuran yang mengandung pigmen bioaktif yang dikenal sebagai betalain, anggota keluarga betalain, yaitu pigmen betasianin yang berwarna merah violet dan pigmen betaxanthin berwarna kuning oranye. Beberapa penelitian dilaporkan bahwa senyawa aktif betalain dalam bit merah mampu menghasilkan antioksidan dan antiinflamasi yang tinggi secara *in vitro* dan berbagai model hewan *in vivo* (Clifford et al, 2015).



Gambar 2.6 Senyawa Kimia Bit Merah (*Beta vulgaris* L)

Keterangan: Senyawa kimia dari bit merah adalah golongan antioksidan berupa nitrat, fenolik, asam askorvik, karotenoid dan betalain (Clifford et al, 2015).

Efek samping dari bit merah merah dapat menyebabkan beeturia yang ditandai dengan urin berwarna merah, batu ginjal, alergi, dapat menurunkan tekanan darah yang berlebihan pada penderita hipertensi, menurunkan kadar gula darah berlebihan pada penderita diabetes, perubahan warna tinja, perut kembung, penyakit hati karena bit terdapat kandungan logam maka bila dikonsumsi berlebih dapat membahayakan hati dan pankreas, asam urat karena kandungan oksalat dari

bit merah, dan beresiko untuk ibu hamil karena tinggi kadar nitrit dari bit merah (Tadimalla, 2017).

2.7.1 Klasifikasi Bit merah (*Beta vulgaris* L)

Menurut penelitian Ninfali dan Angelino (2013), taksonomi Bit dapat dikelompokkan sebagai berikut:

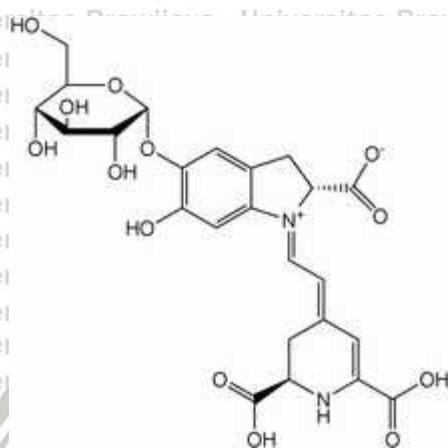
Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Sub kingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: <i>Hamamelidae</i>
Ordo	: <i>Caryophyllales</i>
Famili	: <i>Chenopodiaceae</i>
Genus	: <i>Beta</i>
Spesies	: <i>Beta vulgaris</i> L

2.7.2 Betalain

Senyawa betalain merupakan pigmen berwarna merah violet dan kuning orange yang banyak terdapat pada bit merah. Betalain sering digunakan sebagai pewarna alami industri pangan. Secara umum betalain diklasifikasikan menjadi dua, yaitu betasianin yang berwarna merah violet dan betasantin berwarna kuning oranye. Betalain bersifat larut air dan kaya kandungan nitrogen yang dihasilkan dari pigmen merah bit merah. Betasianin merupakan turunan dari betalain. Betasianin dari bit merah terbukti memiliki efek anti radikal bebas dan antioksidan tinggi (Gengatharan *et al*, 2015). Senyawa betalain memiliki sifat fungsional sebagai

antimikroba dan antioksidan yang mampu menghambat perkembangan sel-sel tumor pada tubuh manusia (Kumar, 2015).

Adapun struktur senyawa betalain sebagai berikut:



Gambar 2.7 Struktur Kimia Betalain

Keterangan: Struktur kimia senyawa betalain tidak berhubungan dengan senyawa antosianin. Betalain mengandung nitrogen, sedangkan antosianin tidak. Betalain disintesis oleh tirosin dan bukan golongan flavonoid (Tanaka *et al*, 2008).

Senyawa Betalain merupakan pigmen mengandung nitrogen yang dapat larut air. Dalam Bit merah terdapat senyawa aktif betalain (Clifford *et al*, 2015). Senyawa betalain disebut juga dengan asam betalamat dan turunannya *betacyanin* dan *betaxanthin* (Mereddy *et al*, 2016). Betalain juga umum digunakan sebagai pewarna alami untuk pengolahan pangan. Betalain memiliki sifat sebagai antioksidan, sehingga mampu melindungi komponen tubuh dari gangguan stres oksidatif (Ninfali & Angelino, 2013). Betalain dalam bit merah mempunyai antioksidan lebih besar 1-2 kali lipat dari antosianin (Gengatharan *et al*, 2015).

Manfaat betalain bagi tanaman bit merah adalah melindungi tanaman dari sinar UV dan berfungsi sebagai penyerbukan dan penyebaran benih ditandai dengan memberi sinyal pada hewan untuk memakan tanaman tersebut (Tanaka *et*

al, 2008). Berbagai penelitian telah dilakukan, bahwa Ekstrak Etanol Bit Merah berfungsi sebagai antioksidan, anti kanker, antimikroba, anti malaria dan anti inflamasi (Vulic et al, 2013; Gengatharan et al, 2015).

Senyawa Betalain memiliki persamaan dan perbedaan dengan antosianin.

Persamaan betalain dan antosianin adalah bersifat larut air, berasal dari tumbuhan yang menghasilkan zat berwarna. Sedangkan perbedaan betalain dengan antosianin yaitu betalain mengandung nitrogen berasal dari tirosin yang terdapat pada tanaman, namun antosianin tidak memiliki nitrogen. Tumbuhan yang memiliki senyawa antosianin adalah kubis ungu (*brassica oleracea*), ubi ungu (*Ipomea batatas*), bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*), bunga sepatu (*Hibiscus rosasinensis*). Tumbuhan yang memiliki senyawa betalain adalah bit merah (*Beta vulgaris L.*), buah naga merah (Red pitahaya), buah kaktus berduri (*prickly pear*), dan bayam merah (*amanrathus tricolor L*) (Gengatharan et al, 2015).

Bit merah mengandung senyawa kimia diantaranya, asam askorbat, *karetenoit*, *asam fenolik*, *betalain*, dan *favonoid*. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa betalain memiliki antioksidan tinggi dan anti inflamasi secara *in vivo* dan *in vitro* pada beberapa model hewan coba. Suplemen bit merah dapat mencegah kerusakan oksidatif pada struktur DNA, lipid, dan protein secara *in vitro*. Bit merah terbukti dapat mencegah hipertensi, diabetes dan peradangan dalam tubuh manusia (Clifford et al, 2015; Indu et al. 2017).

2.8 Biologi Reproduksi Tikus Betina (*Rattus norvegicus*)

Model hewan mamalia yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih atau *Rattus norvegicus*. Tikus Betina dipilih sebagai hewan coba karena struktur dan genom tikus menyerupai manusia. Menurut Hendrich (2006) taksonomi tikus betina (*Rattus norvegicus*), sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Rattus*
Spesies : *norvegicus*

Tikus betina putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan coba pada berbagai penelitian ilmiah. Sifat menguntungkan dari tikus betina putih adalah mudah berkembang biak, mempunyai ukuran lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Siklus reproduksi tikus betina disebut dengan estrus. Siklus estrus berasal dari bahasa latin yang disebut *oestrus* yang bermakna gairah atau birahi. Siklus estrus adalah proses yang dipengaruhi dan diatur oleh berbagai hormon reproduksi (Nursyah, 2012).

Dalam siklus estrus terdapat empat fase siklus estrus, yaitu prestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Ovulasi terjadi dari pada fase proestrus hingga fase estrus. Dari awal kematangan seksual sampai usia 12 bulan, panjang siklus rata-rata pada tikus betina adalah 4-5 hari. Selama fase estrus, hormon prolaktin, LH dan FSH

rendah dan meningkat pada fase proestrus. Estradiol mulai meningkat pada metestrus, mencapai tingkat puncak selama proestrus dan kembali ke fase estrus. Terjadi peningkatan sekresi progesteron pada fase metestrus dan diestrus dan menurun setelah fase-fase tersebut. Namun progesteron meningkat lagi mencapai puncak kedua menjelang akhir fase proestrus. Karakterisasi setiap fase berdasarkan sel yang diamati melalui apusan vagina selama 12 jam (Marchondes *et al*, 2002)

Sebelum pubertas saluran reproduksi tikus betina tidak berfungsi. Pada masa pubertas tikus betina terjadi pembentukan pelepasan hormon luteinizing (LH) setelah minggu pascakelahiran keempat (tiga puluh hari) yang menyebabkan maturasi ovarium. Perubahan pelepasan hormon LH mulai terlihat pada 8-9 hari sebelum fase proestrus, dan pada fase anestrus terjadi perubahan mode pelepasan hormon LH. Berdasarkan pemeriksaan vagina, durasi siklus estrus untuk tikus betina 4 atau 5 hari, diantaranya fase proestrus 12-14 jam, fase estrus 25-27 jam, fase metestrus 6-8 jam, dan diestrus 55-57 jam (Westwood, 2008).

Fase anestrus yaitu fase organ reproduksi tikus betina tidak berfungsi atau fase diam. Fase proestrus merupakan fase tikus betina alat reproduksinya pada keadaan ovulasi. Fase metestrus merupakan alat reproduksi tikus betina tidak terjadi konsepsi, karena pada saluran reproduksi mereda (diam), dan fase diestrus adalah saluran reproduksi tikus mempersiapkan penerimaan ovum. Berikut ini adalah siklus estrus tikus betina dan fase-fase yang terjadi dalam organ reproduksi tikus, yaitu:

1. Fase Diestrus

Vagina mulai aliran darah leukosit ke epitel menurun dan selanjutnya terjadi proliferasi sel dan penebalan endometrium. Pada fase tidak ada stratum granulosum yang ditandai dengan pengurangan aliran darah leukosit. Sedangkan pada uterus tampak lumen kecil di vaskular seperti slit. Epitel kolumnar rendah

dan terjadi mitosis, serta pada akhir fase ini terjadi oedema stroma endometrium.

Pada ovarium mulai terlihat epitel kolumnar dan terjadi pembentukan jaringan fibrosa di rongga tengah uterus.

2. Fase Proestrus

Vagina mulai terjadi degenerasi sel yang ditandai dengan stratum granulosum lapisan mukoid superfisial dan stratum korneum meningkat. Pada fase dapat terjadi mitosis, namun dapat terjadi juga polimorfis. Uterus mulai terbentuk epitelium ke kolumnar, mitosis dan dilatasi pada akhir fase ini. Pada ovarium korpus luteum merosot dan proliferasi jaringan fibrosa di rongga sentral.

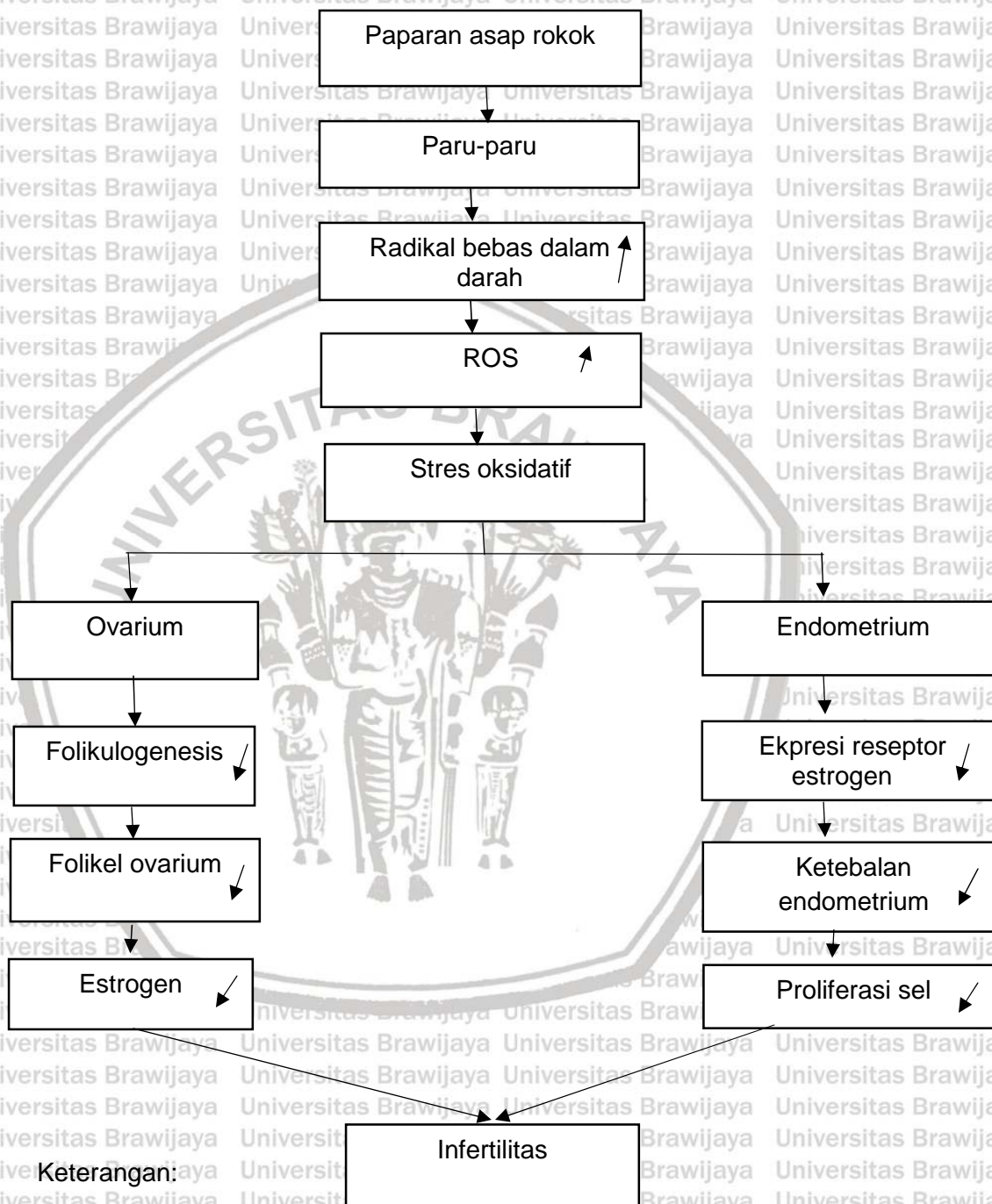
3. Fase Estrus

Pada vagina, secara progresif mulai terlihat penumpukan lapisan mukoid, epitel endometrium menurun serta puing-puing sel mulai terlihat. Pada uterus fase estrus merupakan munculnya degenerasi sel/nekrosis epitel endometrium dan kelenjar. Dilatasi lumen tetap berlanjut sampai akhir fase estrus. Pada ovarium, korpus luteum terbentuk dengan sel basofilik disitoplasma dan tidak ada jaringan fibrosa.

4. Fase Metestrus

Fase metestrus merupakan kelanjutan dari fase estrus yang berlangsung selama 21 jam (Baker *et al*, 1980). Pada vagina, Mulai terjadi pelepasan lapisan epitel secara komplis. Kemudian peluruhan sel-sel epitel tetap berlanjut sampai dengan stratum granulosum hilang dan germinal sel meningkat. Pada uterus, degenerasi sel epitel endometrium tetap terjadi dan mulai aktivitas mitosis. Aktivitas mitosis dan degenerasi sel endometrium terlihat sbersamaan. Pada ovarium, korpus luteum masih mengandung rongga cairan tanpa jaringan berserat (Westwood *et al*, 2008).

2.9 Kerangka Teoritis



Gambar 2.8 Pengaruh Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) terhadap kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok.

2.9.1 Keterangan Kerangka Teoritis

Pengaruh paparan asap rokok tidak hanya beresiko terhadap perokok itu sendiri (perokok utama), namun beresiko terhadap non perokok (perokok pasif) yang berada disekitar perokok utama yang memberi efek negatif pada kesehatan reproduksi. Stres oksidatif terjadi ketidakseimbang antara ROS (radikal bebas) dan oksidan. Stres oksidatif dapat menimbulkan kerusakan lipid, protein, dan asam nukleat. Stres oksidatif jangka pendek dapat terjadi pada jaringan yang mengalami trauma, infeksi, Inflamasi, hipoksia, toksis, dan olahraga berlebihan. Enzim yang banyak menghasilkan radikal bebas yaitu *xanthine oxidase*, *lipogenase*, *cyclooxygenase* melalui aktivasi fagosit melepaskan ion-ion tembaga, terjadi gangguan pada rantai transpor elektron dari fosforilasi oksidatif, sehingga produksi ROS berlebihan (Lobo *et al*, 2010).

Pengaruh paparan asap rokok menyebabkan stres oksidatif di endometrium sehingga menghambat proliferasi sel melalui jalur nitrit oksid mengakibatkan terjadi gangguan siklus menstruasi. Selain itu nikotin, karbonmonoksida dan *benzo(a)pyrene* juga menurunkan proliferasi sel di endometrium, yang berakibat terjadi penurunan ketebalan endometrium (Khorram *et al*, 2010). Kandungan *benzo(a)pyrene* dalam asap rokok mempengaruhi penurunan hormon estradiol menyebabkan hilangnya atau menurunnya pertumbuhan sel follikel di ovarium melalui apoptosis (Tuttle *et al*, 2009).

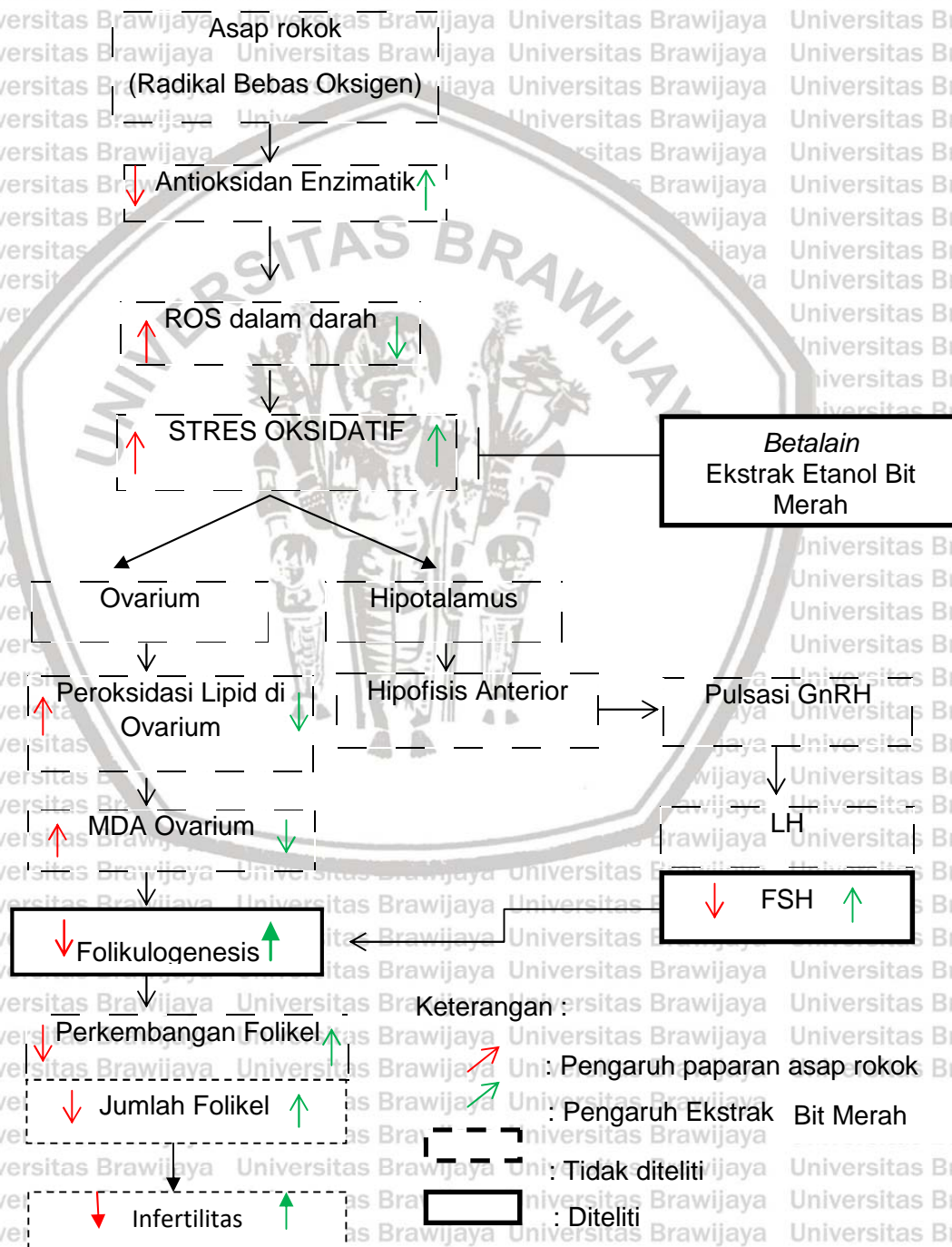
Untuk menetralkan ROS berlebihan dalam tubuh maka dibutuhkan antioksidan. Antioksidan yaitu senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga dapat mencegah terjadinya berbagai penyakit. Penelitian oleh Ratnawati *et al* (2014), pemberian alpha tocopherol pada tikus betina yang dipapar asap rokok, terbukti dapat mencegah

stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya hormon estrogen dan ketebalan endometrium. Selain itu pigmen antosianin dari ubi jalar ungu terbukti efektif mencegah stres oksidatif dengan meningkatnya ekspresi reseptor estrogen alpha dan ketebalan endometrium pada tikus betina yang dipapar asap rokok. Penulis berasumsi bahwa hal tersebut dapat mencegah terjadinya infertilitas (Utami, 2016).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 KERANGKA KONSEP



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2 KETERANGAN KERANGKA KONSEP

Asap rokok merupakan salah satu radikal bebas eksogen yang dapat masuk ke dalam peredaran darah, sehingga dapat mengganggu semua sel dan jaringan dalam tubuh. Tubuh secara fisiologis menghasilkan antioksidan untuk menangkalkan reaktivitas radikal bebas. Antioksidan ini menangkap radikal bebas lalu mencegah amplifikasi reaktivitasnya melalui potongan reaksi oksidasi berantai radikal bebas dengan komponen seluler, sehingga antioksidan ini disebut juga *free radical scavenger*. Apabila jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, maka radikal bebas akan meningkatkan ROS di dalam darah. Jika kondisi ini berlangsung secara terus menerus tanpa ada perlawanan dari dalam tubuh, maka akan terjadi stres oksidatif.

Stres oksidatif dapat menyebabkan gangguan sintesis dan sekresi GnRH hipotalamus. Kegagalan ini akan menyebabkan kegagalan hipofisis untuk melakukan sintesis dan sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) maupun *Luteinizing Hormone* (LH). Selain itu, stres oksidatif yang menyebabkan oleh asap rokok dapat mempengaruhi oölkulogenesis dengan menghambat pertumbuhan folikel, meningkatkan apoptosis, menurunkan volume ovarium, jumlah folikel, serta menyebabkan kerusakan ovarium, termasuk kerusakan sel granulosa. Komponen asap rokok yang menimbulkan stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan DNA pada folikel di ovarium sebagai sumber hormon esterogen juga menunjukkan bahwa nikotin menekan pertumbuhan folikel di ovarium yang berakibat pada penurunan kadar hormon esterogen.

Salah satu bioaktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan untuk meningkatkan radikal bebas adalah antioksidan. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa semakin tinggi kandungan *betalain*, maka semakin tinggi efek antisidannya.

Penelitian lain juga mengungkapkan bahwa efek antioksidan pada ekstrak *Betalain* Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) lebih tinggi di banding vitamin C. Penelitian lain yang mendukung efek antioksidan pada *betalain* yaitu *betalain* Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) dapat meningkatkan ekspresi enzim antioksidan.

3.3 HIPOTESIS PENELITIAN .

Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) berpengaruh terhadap peningkatan Kadar FSH dan Folikulogenesis pada Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Asap Rokok.

3.3.1 SUB HIPOTESIS PENELITIAN

- Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) meningkatkan kadar FSH pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang di paparkan asap rokok.
- Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) meningkatkan perkembangan folikel pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang di paparkan asap rokok.
- Ada hubungan dosis Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) yang diberikan dengan kadar FSH maupun dengan jumlah Folikulogenesis.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *Post Test Only Control Group Design*. Eksperimental adalah suatu penelitian yang menyelidiki hubungan sebab akibat untuk membandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Sedangkan pendekatan *post test only control group design* adalah salah satu jenis *true experimental*, dimana pengujiannya hanya diamati setelah perlakuan/intervensi diberikan (Zainudin, 2011). Pada penelitian ini perlakuan peneliti adalah paparan asap rokok kretek kemudian diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) berbagai dosis yang berbeda pada ketiga kelompok yaitu 125, 250 dan 500mg/tikus/hari (Clifford *et al.*, 2015) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok. Fenomena yang diukur dari akibat adanya perlakuan dari peneliti adalah kadar FSH dan Folikulogenesis ovarium.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini rencana dilakukan di 3 tempat, yaitu di Laboratorium Biomedik, Patologi Anatomi Kessima Medika dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Laboratorium Farmakologi sebagai tempat pemeliharaan *Rattus norvegicus* dan perlakuan terhadap hewan coba yaitu dengan pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*), pemaparan asap rokok, pembedahan dan pengambilan sampel

b. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran sebagai laboratorium untuk melakukan pengukuran kadar FSH ovarium pada *Rattus norvegicus* dengan menggunakan metode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) FSH ELISA Kit merk Cusabio catalog number CSB-E06869r,

c. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran sebagai Laboratorium untuk menghitung Folikulogenesis ovarium pada *Rattus norvegicus* dan menggunakan metode HE (Hematoksilin Eosin)

4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama dua bulan dari bulan Januari sampai Maret 2018 yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu 1 minggu waktu yang digunakan sebagai aklimatisasi, 8 minggu waktu yang digunakan sebagai perlakuan pada sampel, dan sisa waktu digunakan sebagai analisis data. Proses penelitian dilakukan setelah memperoleh ijin etik dari komisi etik Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Sampel Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan sampel berupa hewan coba tikus putih betina dengan jumlah 30. Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya. Alasan pemilihan tikus putih pada penelitian ini adalah karena fungsi, bentuk organ, proses biokimia dan biofisik memiliki kemiripan dengan manusia, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk digunakan pada berbagai jenis penelitian eksperimental.

Tikus yang dapat dijadikan sampel harus memenuhi kriteria inklusi sebagaimana berikut:

- Tikus galur Wistar

- Jenis kelamin betina
- Usia reproduktif (12 minggu/ 3 bulan)
- Berat badan 100-150 gram
- Kondisi sehat, tidak hamil dan tidak terdapat kecacatan secara anatomi

Sampel yang memiliki kriteria eksklusi, harus dikeluarkan dari penelitian.

Adapun kriteria eksklusi adalah:

- Tikus tampak sakit sebelum perlakuan
- Tikus yang telah digunakan penelitian sebelumnya
- Hewan coba mati pada saat proses penelitian berlangsung

4.3.1 Besar Sampel

Besar sampel setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus hanafiah (2012),

dengan rumus :

$$(t-1) (r-1) \quad 15$$

keterangan :

t = jumlah perlakuan yang diberikan

r = jumlah ulangan yang diberikan

dalam penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, dengan menghitung

jumlah sampel :

$$(n-1) (t-1) \quad 15$$

$$(n-1) (5-1) \quad 15$$

$$(n-1) (4) \quad 15$$

$$(n-1) \quad 3,75$$

n 4,75 (dibulatkan menjadi 5)

Besar sampel didapatkan dengan mengalikan jumlah replikasi dengan jumlah kelompok. Berdasarkan perhitungan diatas didapatkan 5 kali replikasi untuk

masing-masing kelompok dan ditambahkan 20 % untuk sampel eror, sehingga menjadi $5 + 0.95 = 5.95$, dibulatkan menjadi 6 ekor tikus putih. Jadi total sampel yang digunakan untuk 5 kelompok adalah 30 ekor.

Hasil penghitungan menggunakan rumus diatas diperoleh hasil hitung 5 ekor tikus putih dalam setiap kelompok penelitian sehingga jumlahnya 25 tikus putih dimana terdapat 5 kelompok penelitian. Teknik penggolongan menggunakan randomisasi pada kedua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Teknik tersebut memberikan peluang yang sama untuk dijadikan sampel pada setiap kelompok perlakuan.

Sampel dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu :

a. Kontrol negatif

Yaitu kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) yang tidak memperoleh perlakuan baik pemberian asap rokok maupun Ekstrak Etanol Bit Merah

b. Kontrol positif

Yaitu kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap rokok tetapi tidak diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah

c. Kelompok perlakuan 1

Yaitu kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi Ekstrak Etanol Bit Merah dengan dosis 125mg/kg/BB/hari dan diberi paparan asap rokok.

d. Kelompok perlakuan 2

Yaitu kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak bit merah dengan dosis 250 mg/kg/BB/hari dan diberi paparan asap rokok

e. Kelompok perlakuan 3

Yaitu kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak bit merah dengan dosis 500 mg/kg/BB/hari dan diberi paparan asap rokok

Dosis yang digunakan yaitu 125, 250, dan 500 mg/kgBB/hari (Clifford et al., 2015)

4.4. Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan dan Alat Pemeliharaan Tikus

a. Bahan hewan coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rattus novergicus* yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

b. Bahan untuk pemeliharaan hewan coba

- 1) Pakan hewan coba adalah makanan ternak yang diproduksi oleh PT. Japfa Comfeed Indonesia, Tbk Buduran Sidoarjo yang sesuai dengan *Standart Operasional Prosedur* (SOP), berbentuk pellet yang dicampur tepung terigu dan air matang agar konsistensinya tidak keras (Lab. Farmakologi FKUB).
- 2) Air minum yang diberikan untuk hewan coba adalah air mineral yang diberikan secara peroral (*ad libitum*)
- 3) Alat untuk pemeliharaan hewan coba Kandang yang digunakan untuk pemeliharaan tikus terbuat dari box plastik dengan ukuran 40 x 30 x 20 cm yang diberi sekam pada bagian alasnya dan ditutup bagian atasnya menggunakan kawat berjaring
- 1) Masker dan *handscoon* digunakan sebagai alat perlindungan diri saat melakukan pemeliharaan tikus
- 2) Sabun dan sikat untuk mencuci kandang dan tempat minum tikus
- 3) Timbangan dengan satuan gram untuk mengukur berat badan tikus

4.4.2 Bahan dan Alat untuk perlakuan hewan coba

4.4.2.1 Pemaparan Asap Rokok

a. Paparan asap rokok yang diberikan pada tikus betina (*Rattus novergicus*) diperoleh dari rokok kretek tanpa filter yang memiliki kandungan 2,90 mg/batang dan tar 44,30 mg/batang, dengan paparan 2 batang rokok per hari dan diberikan selama 56 hari (8 minggu) dan terbukti memiliki pengaruh terhadap ovarium

b. Proses pemaparan asap rokok menggunakan alat *smoking pump* dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, yang terbuat dari *fibreglass* dengan ukuran 26 x 36 x 12 cm. Alat ini memiliki klep yang berfungsi untuk masuk dan keluarnya asap rokok selama proses pemaparan.

4.4.2.2 Poses Ekstrak Etanol Bit Merah (Beta vulgaris L)

Pembuatan ekstrak bit dengan menggunakan etanol :

Simplisia buah bit didapatkan di UPT Materia Medika yang terletak di Jalan Lahor No 87 Kota Batu Malang Jawa timur. Buah bit yang dipilih adalah buah bit yang tidak busuk berjumlah 15 kg, kemudian dilakukan pencucian hingga bersih dan dilakukan penjemuran diluar ruangan sehingga terkena cahaya matahari yang bertujuan agar buah bit yang dikeringkan bebas dari air. Setelah kering, bit tersebut diblender hingga halus dan didapatkan hasil 935gram. Kemudian proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Untuk ekstraksi buah bit digunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar (Hukmah, 2007)

Bahan yang digunakan yaitu buah bit kering (simplisia) seberat 500 gram dan pelarut etanol 96% (900ml). prosesnya dilakukan secara bertahap sebanyak 5 kali

yaitu bit kering (simplisia) diambil sebanyak 100gram dan pelarut etanol sebanyak 900ml, lalu dilakukan proses maserasi hingga selesai sampai mendapatkan ekstrak bit merah berupa pasta. Kemudian hal yang sama dilakukan kembali sampai simplisia yang berjumlah 500 gram diolah menjadi ekstrak bit merah.

Alat yang digunakan terdiri dari timbangan analitik, pengaduk, gelas beker, kertas saring *whatman*, *vacum oven* dan botol kaca.

Langkah kerja :

Buah bit kering yang telah menjadi serbuk dimasukkan kedalam gelas beker ukuran 1 liter air. Di tuangkan dengan pelarut etanol perbandingan 1: 9 (100 gram serbuk buah bit dan 900 ml etanol 96%). Kemudian campuran tersebut dikocok selama 30 menit lalu dibiarkan selama 1 malam pada suhu ruangan sampai mengendap. Saring bahan yang telah tercampur untuk memperoleh campuran pelarut zat aktif yang telah disaring sebanyak 1 liter dimasukkan kedalam gelas labu kemudian dipasang evaporator. Isi *water bath* hingga penuh kemudian atur suhu hingga 70°C. Tunggu sampai larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam gelas labu evaporasi. Pelarut ditampung kedalam gelas labu penampung hingga terpisah dengan zat aktif ($\pm 1,5$ sampai 2 jam) sebanyak ± 900 ml. hasil ekstraksi yang didapat melalui proses maserasi berjumlah 77 gram, kemudian masukkan kedalam botol plastik dan simpan pada suhu ruangan.

4.4.2.3 Penentuan Siklus Estrus

Penentuan siklus estrus dilakukan melalui pemeriksaan swab vagina yang dimulai pada hari ke-57 dari waktu paparan pada seluruh sampel yang akan dibedah.

Apusan vagina ini bertujuan untuk menentukan fase pro estrus pada tikus.

Apusan vagina yang dilakukan pada awal penelitian sebagai penanda tikus mulai

dilakukan perlakuan dan hari terakhir waktu penelitian dengan tujuan untuk menentukan siklus estrus. Masa estrus dapat diketahui dengan melakukan swab vagina kemudian dilihat dimikroskop sehingga memenuhi syarat masa estrus seperti terlihat lebih sedikit sel kornifikasi dibandingkan dengan sel epitel bertanduk biasanya sekitar 9 minggu setelah intervensi penelitian. Fase estrus pada tiap mamalia mengalami perbedaan, jadi jika tikus (*rattus norvegicus*) belum masuk pada fase estrus, maka harus ditunggu sampai masuk pada fase estrus. Pembedahan pada fase estrus dikarenakan pada fase ini terjadi proses folikulogenesis sehingga mendukung penelitian yang akan dilakukan. (Marcondes, 2002).

Langkah-langkah hapusan vagina :

- a. Mencuci tangan
- b. Menyiapkan alat dan bahan seperti, sarung tangan, *cotton bud*, larutan NaCl 0,9%, kaca preparat, larutan giemsa.
- c. Menggunakan sarung tangan
- d. Mencelupkan *cotton bud* pada larutan NaCl 0,9%
- e. Posisikan tikus dalam keadaan telentang, perlahan masukkan *cotton bud* kedalam vagina dengan sudut 45° kemudian diputar 360° dilakukan sebanyak 1-2 kali
- f. Kaca preparat yang sudah kering dimasukkan kedalam wadah berisi cairan alkohol kemudian difiksasi selama tiga menit, kemudian bilas menggunakan air bersih dan keringkan
- g. Hasil preparat kemudian di dimasukkan dalam larutan *giemsa* selama lima belas menit, kemudian dibilas dengan air bersih kemudian diangin-anginkan.
- h. Lakukan pengamatan morfologis sel dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop. Hasil hapusan vagina dilakukan pada fase proesterus karena fase ini

menentukan fase folikular pada *Rattus norvegicus*. Pada fase proesterus tampak epitel yang berinti yang lebih banyak dari epitel yang bertanduk.

Penentuan Dosis Dengan Deret Ukur

Untuk menentukan dosis pada 3 kelompok menggunakan deret ukur, rumus deret ukur menurut Harmita dan Maksum (2008) adalah

$$Y_n = Y_1 \times R^{n-1}$$

Keterangan :

Y_n = Dosis ke n

Y_1 = Kelompok ke

R = Faktor Geometri (Tidak boleh 0 ataupun 1)

$$\text{Dosis 1} = 125 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 2} = Y_1 \times R^{n-1}$$

$$= 125 \times 2^{2-1}$$

$$= 250 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 3} = Y_1 \times R^{n-1}$$

$$= 250 \times 2^{3-1}$$

$$= 500 \text{ mg}$$

Sehingga dosis Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 125, 250 dan 500 mg/ kg BB (Cliffort et al, 2015).

Pewarnaan Preparat Apusan Vagina

Sebelum tikus dianastesi maka terlebih dahulu pemeriksaan apusan vagina untuk mengetahui fase siklus estrus tikus. Pengambilan sampel sitologi mulai dilakukan pada hari ke 57. Sampel diperoleh dengan mengambil jaringan epitel vagina tikus.

Bahan yaitu giemsa, alkohol, NaCL 0,9%. Alat terdiri dari : cotton bud (kapas lidi), objec glass, mikroskop. Cara kerja sebagai berikut:

- a. Cotton bud yang telah dibasahi dengan larutan NaCL 0,9% diambil kemudian dimasukkan ke dalam vagina tikus dengan sudut 450 dan melakukan apus sebanyak 1 - 2 kali putaran.
- b. Hasil apusan dari cotton bud dioleskan pada objec glass dan dikeringkan, selanjutnya dilakukan pewarnaan pada preparat apusan vagina. Setiap pengambilan sampel apusan vagina dibuat sebanyak 2 preparat apusan untuk 1 tikus (Prayogha, 2012).
- c. Preparat apusan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam larutan alkohol absolut untuk difiksasi selama 3 menit kemudian diangkat, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- d. Preparat dimasukkan ke dalam larutan giemsa selama 15 menit, kemudian diangkat dan dibilas dengan air mengalir, lalu dikering anginkan dan diamati morfologi sel epitel di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x kemudian dicatat (Prayogha, 2012).

4.4.3. Pembedahan dan Pengambilan Organ

Bahan : ketamin, formalin 10%, NaCl 0,9%, kertas saring. Alat : pinset, gunting, botol tertutup tempat organ, spuit 1 cc, papan sebagai alas tempat pembedahan, paku payung. Cara kerja sebagai berikut :

1. Alat dan bahan untuk bedah minor disiapkan
2. Tikus dianastesi dengan dengan injeksi ketamin sebanyak 0,2 ml secara IM dan ditunggu beberapa menit sampai tikus tidak beregrak lagi.
3. Tikus diletakkan di atas alas papan dengan perut menghadap ke atas dan menggunakan paku payung untuk ditancapkan pada ke empat telapak kaki.

4. Dinding perut dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati, dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan pada sisi atas dan bawah dan diafragma dibuka.
5. Selanjutnya ovarium diambil secara hati-hati dan dimasukkan ke dalam tabung untuk kemudian dilakukan proses pembuatan slide histopatologi dan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).
6. Ovarium dibersihkan dari seluruh ligamen yang melekat. Selanjutnya ovarium dibersihkan dari darah dengan menggunakan (NaCl 0,9%), organ ditiriskan dengan menggunakan kertas saring dengan satu kali tekanan.
7. Setelah air pada organ mulai mengering, uterus utuh ditimbang dengan grade analitik dan selanjutnya dipisahkan antara tandur uterus kiri dan kanan.
8. Kemudian ovarium dimasukkan kedalam botol yang berisi larutan Fixative buffer formalin 10% dan direndam selama 12-24 jam.
9. Organ siap dikirim untuk diproses menjadi preparat di laboratorium patologi anatomi untuk pemeriksaan Folikulogenesis dan di laboratorium biomedik untuk pemeriksaan kadar FSH
10. Bangkai tikus yang tersisa dan tidak digunakan lagi dikubur dengan aman sehingga tidak terjadi pencemaran lingkungan.

4.5 Proses Ekstraksi Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

4.5.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan untuk pembuatan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L* .) antara neraca analitik, gelas ukur, batang pengaduk, mortar stemper, garam natrium karbonat, air mineral dan etanol 96 %.

4.5.2 Prosedur Ekstraksi

Ekstrak Etanol Bit Merah kering (simplisia) sebesar 100 gram dilarutkan menggunakan pelarut etanol 96 % hingga volumenya menjadi 1 liter, kemudian masukkan ke dalam labu evaporator. Isi *waterbath* dengan air hingga penuh kemudian lakukan pemasangan alat dan sesuaikan titik didih pada etanol (90°C), lalu dihubungkan dengan aliran listrik. Proses pemisahan etanol dengan zat aktif dilakukan sampai labu menampung berhenti menetes. Hasil akhir ekstraksi bit merah dengan pelarut etanol 96 % berupa pasta.

4.5.3 Pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah pada Hewan Coba

Pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) pada hewan coba dilakukan setelah proses aklimatisasi berakhir, yaitu dimulai pada minggu kedua sampai selama 56 hari. Pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah dilakukan menggunakan sonde dengan dosis yang konsisten sesuai ketentuan untuk masing-masing kelompok perlakuan didalam penelitian, yaitu 125, 250 dan 500 mg/kgBB/hari (Cliffort *et al*, 2015).

4.5.3.1 Kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah

Perhitungan kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) untuk setiap kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

a) Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Dosis : 125 mg/kgBB/hari

Berat tikus : 150 gram (berat yang digunakan adalah berat rata-rata)

Kebutuhan dosis per hari untuk masing-masing tikus :

$$125 \text{ mg} \times 150 \text{ gram} / 1000 = 18,75 \text{ mg/tikus}$$

Maka, kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah untuk kelompok P1 :

$$18,75 \text{ mg} \times 6 \text{ tikus} = 112,5 \text{ mg/kelompok/hari}$$

Jadi, kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah kelompok P1 selama 8 minggu :

$$112,5 \text{ mg} \times 56 \text{ hari} = 6.300 \text{ mg} (6,3 \text{ gram})$$

b) Kelompok Perlakuan 2 (P2)

Dosis : 250 mg/kgBB/hari

Berat tikus : 150 gram

Kebutuhan dosis per hari masing-masing tikus :

$$250 \text{ mg} \times 150 \text{ gram} / 1000 = 37,5 \text{ mg/tikus}$$

Maka, kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah untuk kelompok P2 :

$$37,5 \text{ mg} \times 6 \text{ tikus} = 225 \text{ mg/kelompok/hari}$$

Jadi, jumlah kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah kelompok P2 selama 8 minggu :

$$225 \text{ mg} \times 56 \text{ hari} = 12.600 \text{ mg} (12,6 \text{ gram})$$

c) Kelompok Perlakuan 3 (P3)

Dosis : 500 mg/kgBB/hari

Berat tikus : 150 gram

Kebutuhan dosis per hari masing-masing tikus :

$$500 \text{ mg} \times 150 \text{ gram} / 1000 : 75 \text{ mg/tikus}$$

Maka, kebutuhan ekstrak bit merah untuk kelompok P3 :

$$75 \text{ mg} \times 6 \text{ tikus} = 450 \text{ mg/kelompok/hari}$$

Jadi, jumlah kebutuhan Ekstrak Etanol Bit Merah kelompok P3 selama 8 minggu :

$$450 \text{ mg} \times 56 \text{ hari} = 25.200 \text{ mg} (25,2 \text{ gram})$$

4.5.3.2 Pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah

Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) bentuk pasta yang akan diberikan pada hewan coba harus dilakukan pengenceran terlebih dahulu menggunakan aquades. Pengenceran Ekstrak Etanol Bit Merah sebanyak 1 gram ke dalam 100 ml aquades, akan menghasilkan suspensi dengan konsentrasi 10 mg/ml.

Jumlah cairan suspensi Ekstrak Etanol Bit Merah yang diberikan untuk setiap hewan coba adalah :

a. Kelompok P1

$(18,75 / 10) \times 1 \text{ ml} = 1,875 \text{ ml/tikus/hari}$, dibagi dalam 2 dosis

- Pagi : 0,94 ml

- Sore : 0,94 ml

b. Kelompok P2

$(37,5 / 10) \times 1 \text{ ml} = 3,75 \text{ ml/tikus/hari}$, dibagi dalam 2 dosis

- Pagi : 1,875 ml

- Sore : 1,875 ml

c. Kelompok P3

$(75 / 10) \times 1 \text{ ml} = 7,5 \text{ ml/tikus/hari}$, dibagi dalam 2 dosis

- Pagi : 3,75 ml

- Sore : 3,75 ml

4.6 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang diukur, yaitu:

1. Variabel Independen (Bebas)

Variabel independen (bebas), yaitu ekstraksi Bit merah (*Beta vulgaris L*) dan asap rokok.

2. Variabel Dependen (Terikat)

Variabel Dependen (terikat), yaitu kadar FSH dan Folikulogenesis.

4.7 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Skala Ukur
Paparan Asap rokok	Kumpulan senyawa kimia yang mengandung bahan berbahaya seperti bahan beracun, mutagenik maupun penyebab terjadinya kanker, dapat menghasilkan radikal bebas, ROS, Komponen dari asap rokok sendiri dapat menyebabkan stres oksidatif didalam tubuh sehingga dapat merusak membran sel, protein, lipid, enzim dan DNA. Asap rokok diberikan selama 8 minggu dengan pemberian 2 batang setiap hari pagi dan sore (Tuttle <i>et al.</i> 2009).	Rasio
Kadar FSH	Kadar FSH dalam darah yang diambil secara intakardial melalui ventrikel kanan jantung, yang sebelumnya sudah dilakukan insisi pada daerah thorax tikus, tetapi dengan keadaan jantung masih berdenyut. Darah yang diambil kurang lebih 3 ml melalui spuit injeksi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa diberi antikoagulan yang kemudian diukur dengan metode Elisa. (Manual Prosedur Bioassay Teknologi Laboratory, 2016)	Rasio
Folikulogenesis	Perhitungan jumlah folikel dilakukan pada ovarium yang dipotong secara melintang kemudian dibuat slide histopatologi dan dilakukan pewarnaan HE dan dihitung jumlah folikel primer dan folikel sekunder, dengan menggunakan <i>Dotslide microscope Olympus XC 10</i> pada penampang keseluruhan atau semua folikel yang ada pada seluruh penampang ovarium dan diidentifikasi lebih lanjut dengan pembesaran 40x (Rahajeng, <i>et al.</i> 2014)	Rasio
Ekstrak Etanol Bit Merah (Beta vulgaris L)	Bit Merah diperoleh dari perkebunan Cangar Batu. Pemrosesan Simplisia Bit Merah diperoleh dari Bit Merah segar dan dikeringkan dilakukan di Materia Medika Batu, kemudian diproses menggunakan metode maserasi di Laboratorium Farmakologi FKUB. Ekstrak Etanol 96%. Bit Merah diberikan secara oral menggunakan sonde dengan dosis 125, 250 dan 500 mg/kg/BB (Cliffort <i>et al.</i> 2015)	Rasio

4.8 Teknik Analisis Data

Dalam penelitian ini teknik analisis data dilakukan berturut-turut antara lain:

(1) uji normalitas data sampel dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk data yang berskala rasio dan ukuran sampel kecil, (2) uji *Anova One Way* (uji F) untuk membandingkan lebih dari 2 kelompok sampel dan data terbukti berdistribusi normal, (3) uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) (bila pada uji *Anova One Way* diperoleh H_0 ditolak) dengan menggunakan LSD (*Least Significant Different*), (4) uji korelasi *Pearson* jika data berdistribusi normal, dan tetapi jika tidak maka digunakan uji *Spearman's rho*. Semua penghitungan dilakukan dengan bantuan piranti lunak (*soft-ware*) *SPSS for Windows 23*. Secara lengkap dijelaskan di bawah ini.

4.8.1 Uji prasyarat parametrik

Untuk membuktikan hipotesis penelitian yang telah diajukan maka dipilih pendekatan uji statistik yang digunakan yaitu uji statistika parametrik, hal ini dikarenakan semua data yang terukur menunjukkan skala data rasio. Sebelum dilakukan analisis data dengan menggunakan uji pada statistika parametrik, maka data akan dianalisis terlebih dahulu dengan uji prasyarat parametrik, yaitu data sampel dari variabel terukur diuji terlebih dahulu apakah data tersebar atau terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas data dalam penelitian ini digunakan uji *Shapiro-Wilk*. Pada uji ini kriteria keputusan dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik pada nilai Sig atau dikenal dengan *p-value*. Jika nilai Sig atau *p-value* menunjukkan nilai yang lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$, maka disimpulkan data terdistribusi normal, sehingga uji parametrik dapat digunakan. Sedangkan jika nilai Sig atau *p-value* menunjukkan nilai yang lebih kecil dari taraf

signifikansi $\alpha = 0.05$, maka disimpulkan data tidak terdistribusi normal, sehingga uji parametrik tidak dapat digunakan (Santoso, 2005).

4.8.2 Uji Anova One Way

Pengujian dengan *Anova One Way* (uji F) digunakan untuk membandingkan rerata variabel terukur pada lebih dari 2 kelompok sampel. Uji ini digunakan bila data berdistribusi normal, bila tidak berdistribusi normal maka digunakan uji *Kruskal Wallis*. Tujuan teknik analisis ini digunakan adalah untuk mengetahui ada atau tidak ada pengaruh perlakuan dari peneliti terhadap objek sampel penelitian. Jika pada uji *Anova One Way* ini menghasilkan kesimpulan H_0 ditolak atau kesimpulan ada perbedaan yang bermakna (signifikan), maka analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda, yaitu dipilih uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) (Steel dan Torrie, 1995). Tujuan digunakan uji *LSD* adalah untuk menemukan pada dosis berapa yang mempunyai pengaruh yang paling bermakna.

4.8.3 Uji Korelasi

Uji korelasi tidak lain adalah menguji ada atau tidak adanya tingkat keeratan hubungan dua variabel terukur (minimal berskala interval), yaitu korelasi antar variabel respon. Dalam penelitian ini digunakan uji korelasi *Pearson* jika data berdistribusi normal, tetapi jika tidak maka digunakan uji *Spearman's rho*. Kriteria keputusan berdasarkan nilai Sig atau *p-value*, jika *p-value* > 0.05 maka disimpulkan ada korelasi yang tidak bermakna antar dua variabel, dan jika *p-value* < 0.05 maka disimpulkan ada korelasi yang bermakna antar dua variabel.

Selanjutnya tingkat keeratan hubungan (koefisien korelasi/KK) dapat diartikan ke dalam tujuh tingkatan (Hasan, 2012) sebagai berikut:

$KK = 0$, tidak ada korelasi.

$0 < KK \leq 0.20$, korelasi sangat rendah/lemah tapi pasti.

$0.20 < KK \leq 0.40$, korelasi rendah/lemah tapi pasti.

$0.40 < KK \leq 0.70$, korelasi yang cukup berarti.

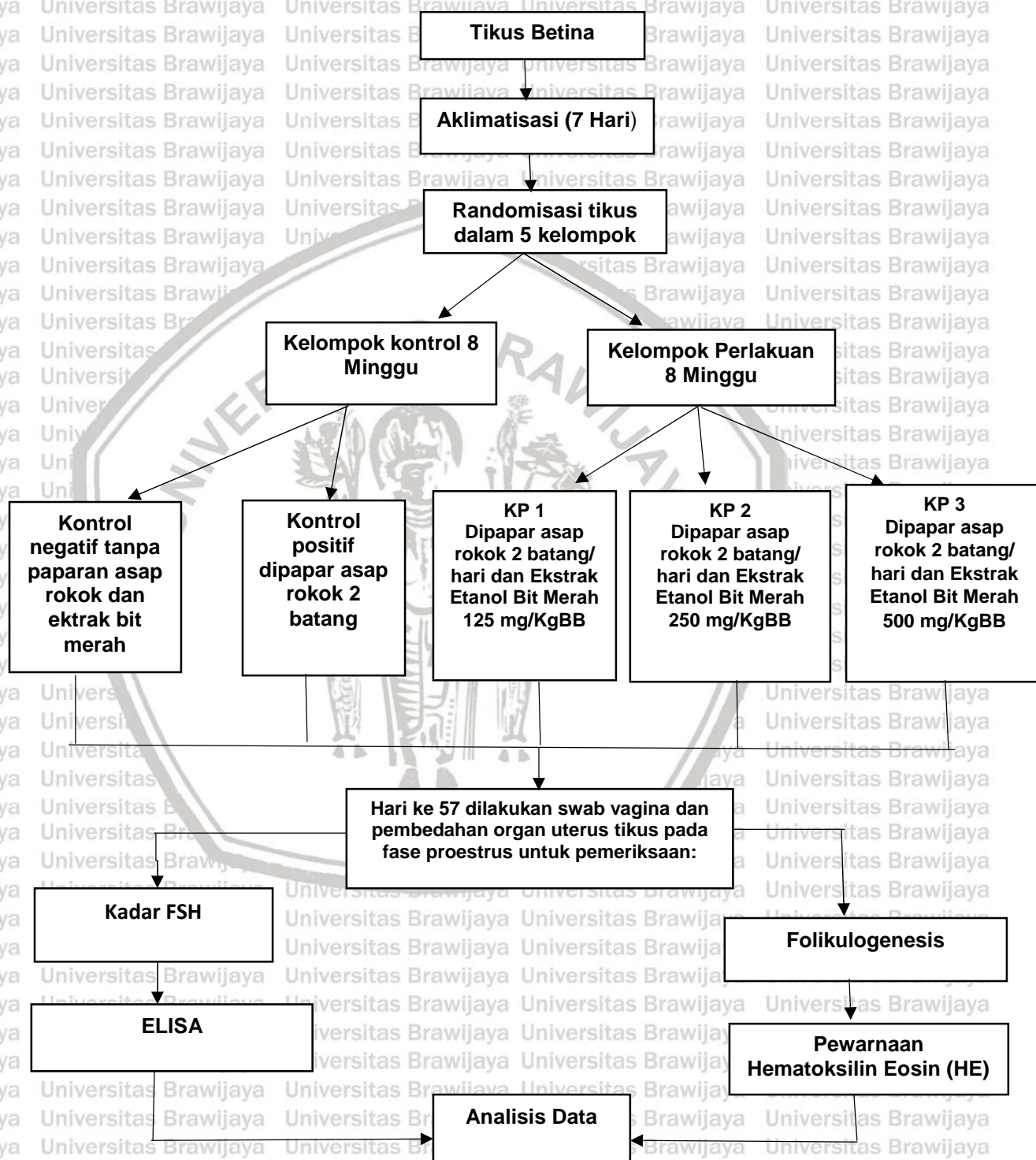
$0.70 < KK \leq 0.90$, korelasi yang tinggi; kuat.

$0.90 < KK < 1.00$, korelasi sangat tinggi; kuat sekali, dapat diandalkan.

$KK = 1$, korelasi sempurna.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema alur Penelitian

BAB 5

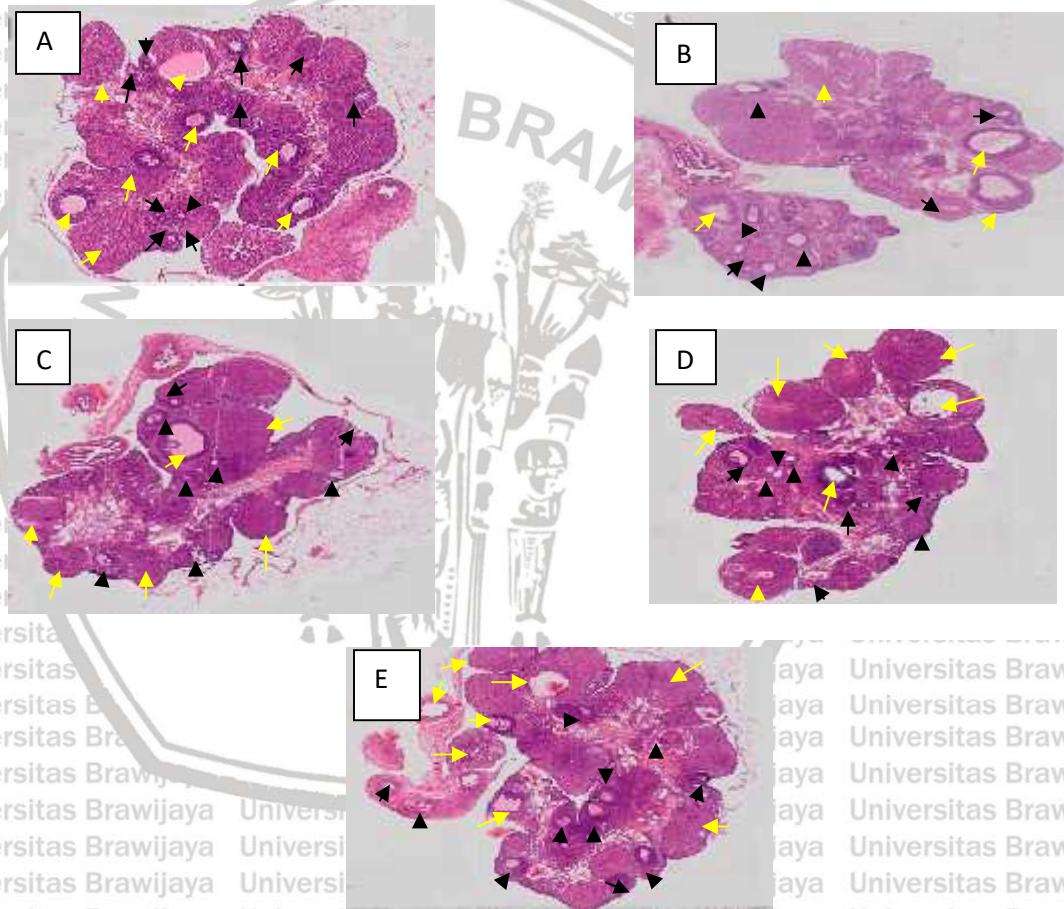
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi, menggunakan sampel *Rattus norvegicus* betina yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh Bit Merah (*Beta vulgaris*) terhadap kadar FSH, jumlah folikel ovarium *Rattus norvegicus* betina yang dipapar asap rokok sebanyak 2 batang perhari selama 8 minggu.

Penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu : 1) kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan paparan asap rokok dan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris* L) yang dianggap sebagai tikus normal, 2) kelompok kontrol positif diberikan paparan asap rokok 2 batang/hari tanpa diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris*), 3) kelompok dosis I yang dipapar asap rokok 2 batang/hari dan diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris*) 125 mg/kgBB/hari, 4) kelompok dosis II yang dipapar asap rokok 2 batang/hari dan diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris*) 250 mg/kgBB/hari, 5) kelompok dosis III yang dipapar asap rokok 2 batang/hari dan diberikan Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris*) 500 mg/kgBB/hari. Saat melalui perlakuan dan pembedahan pada minggu ke-8 perlakuan dilakukan setelah dilakukan swab vagina untuk penentuan fase proestrus. Serum darah jantung diambil untuk pemeriksaan kadar FSH dengan menggunakan metode ELISA di laboratorium Biomedik, sedangkan ovarium diambil kemudian diperiksa secara histopatologi untuk menghitung jumlah Folikel pada Folikel Primer, Folikel Sekunder.

5.1 Hasil Pengamatan Laboratorium

Pengamatan irisan ovarium tikus betina diawali dengan pembesaran 40x. Pada Pembesaran 100x dapat digunakan untuk melihat Folikel Primer dan Folikel Sekunder yang selanjutnya dihitung berapa jumlah masing- masing folikel dalam Ovarium. Pada gambar 5.1 dapat dilihat jumlah folikel primer dan folikel sekunder



Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopis jumlah Folikel Primer dan Folikel Sekunder

- | | |
|-----------------------|---|
| A. Kelompok Kontrol - | : Rerata Folikel Primer (10.60), Rerata Folikel Sekunder (8.40) |
| B. Kelompok Kontrol + | : Rerata Folikel Primer (7.20), Rerata Folikel Sekunder (4.80) |
| C. Dosis I | : Rerata Folikel Primer (8.40), Rerata Folikel Sekunder (6.20) |
| D. Dosis II | : Rerata Folikel Primer (10.00) Rerata Folikel Sekunder (7.40) |
| E. Dosis III | : Rerata Folikel Primer (11.60), Rerata Folikel Sekunder (8.80) |

Keterangan :

→ : Folikel Primer

→ : Folikel Sekunder

5.2 Hasil uji prasyarat parametrik

Variabel kadar FSH dan jumlah folikel primer berskala data rasio, sehingga untuk membuktikan hipotesis penelitian digunakan pendekatan analisis statistik parametrik. Sebelum data dianalisis lebih lanjut maka dilakukan analisis prasyarat parametrik, yaitu data berdistribusi normal jika tidak maka digunakan analisis statistik non parametrik. Dalam penelitian uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Adapun kriteria keputusan, yaitu bila nilai Sig atau *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data berdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai Sig atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data tidak berdistribusi normal. Pada analisis uji *Shapiro-Wilk* diperoleh dan dijelaskan secara rinci tampak pada tabel di bawah ini (Lampiran 1).

Tabel 5.1 Hasil uji normalitas data

Kelompok pengamatan	n	Kadar FSH	p-value		distribusi
			jumlah folikel primer	jumlah folikel sekunde r	
kontrol negatif	5	0.707	0.754	0.314	normal
kontrol positif	5	0.728	0.314	0.314	normal
P1 (eks. Bit 125 mg/KgBB/hari)	5	0.860	0.814	0.314	normal
P2 (eks. Bit 250 mg/KgBB/hari)	5	0.151	0.119	0.814	normal
P3 (eks. Bit 500 mg/KgBB/hari)	5	0.680	0.201	0.314	normal

Keterangan: Jika *p-value* < 0.05 berarti data tidak berdistribusi normal dan jika *p-value* > 0.05 berarti data berdistribusi normal

Pada Tabel 5.1 berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* diperoleh bahwa data kadar FSH, jumlah folikel primer, dan jumlah folikel sekunder untuk masing-masing kelompok pengamatan telah menunjukkan nilai *p-value* yang semuanya lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$. Jadi semua data telah terbukti berdistribusi normal

sehingga terpenuhi uji prasyarat parametrik. Selanjutnya data dianalisis dengan uji homogenitas data.

Tabel 5.2 Hasil uji homogen data

Variabel	p-value	keterangan
Kadar FSH	0.186	Data homogen
Jml folikel primer	0.086	Data homogen
Jml folikel sekunder	0.348	Data homogen

Keterangan: Jika $p\text{-value} < 0.05$ berarti data heterogen dan jika $p\text{-value} > 0.05$ berarti data homogen.

Pada Tabel 5.2 berdasarkan hasil uji *Levene Statistic* menunjukkan bahwa data kadar FSH ($p=0.186$), jumlah folikel primer ($p=0.086$), dan jumlah folikel sekunder ($p=0.348$) telah menunjukkan nilai $p\text{-value}$ yang semuanya lebih besar dari 0.05. Jadi data ketiga variabel telah terbukti tidak bervariasi atau homogen sehingga terpenuhi uji prasyarat parametrik. Selanjutnya data dianalisis dengan uji statistika parametrik untuk membuktikan hipotesis penelitian yang telah diajukan pada bab 3 sebelumnya.

5.3 Hasil uji perbandingan kadar FSH

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data kadar FSH diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH kelima kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ (Lampiran 3). Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh secara lengkap tampak pada Tabel 5.3 di bawah ini.

Tabel 5.3 Pengaruh Etanol Ekstrak Etanol Bit Merah Terhadap kadar FSH Pada Tikus yang dipapar asap rokok

Kelompok pengamatan	n	Rerata \pm SD	p-value
kontrol negatif	5	55.23 \pm 8.42 ^a mIU	0.000< α
kontrol positif	5	11.07 \pm 2.26 ^b mIU	
P1 (eks. Bit 125 mg/KgBB/hari)	5	20.80 \pm 7.46 ^c mIU	
P2 (eks. Bit 250 mg/KgBB/hari)	5	26.85 \pm 4.30 ^c mIU	
P3 (eks. Bit 500 mg/KgBB/hari)	5	37.82 \pm 9.14 ^d mIU	

Keterangan: Pada rerata \pm sd menunjukkan hasil uji LSD jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value}<0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value}>0.05$).

Pada Tabel 5.3 berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH antara kelompok negatif (55.23 \pm 8.42^a ng/mL) dengan kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (11.07 \pm 2.26^b ng/mL). Tampak nilai rerata kadar FSH kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata kadar FSH pada kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa tikus yang terpapar asap rokok kadar FSHnya akan menurunkan bila dibandingkan dengan tikus yang sehat. Dengan kata lain paparan asap rokok pada tikus *Rattus norvegicus* dapat menurunkan kadar FSH.

Demikian pula rerata kadar FSH kelompok kontrol negatif (55.23 ± 8.42^a ng/mL) berbeda bermakna dengan kelompok P1 (20.80 ± 7.46^c ng/mL), berbeda bermakna dengan kelompok P2 (26.85 ± 4.30^c ng/mL) maupun P3 (37.82 ± 9.14^d ng/mL).

Tampak nilai rerata kadar FSH pada kelompok kontrol negatif jauh lebih besar dibandingkan dengan kelompok lain.

Hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* juga menjelaskan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (11.07 ± 2.26^b ng/mL) dengan kelompok P1 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 125 mg/KgBB/hari (20.80 ± 7.46^c ng/mL). Tampak nilai rerata kadar FSH kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata kadar FSH pada kelompok P1. Hal ini berarti bahwa tikus dengan pemberian perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari akan meningkatkan kadar FSH bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan kadar FSH.

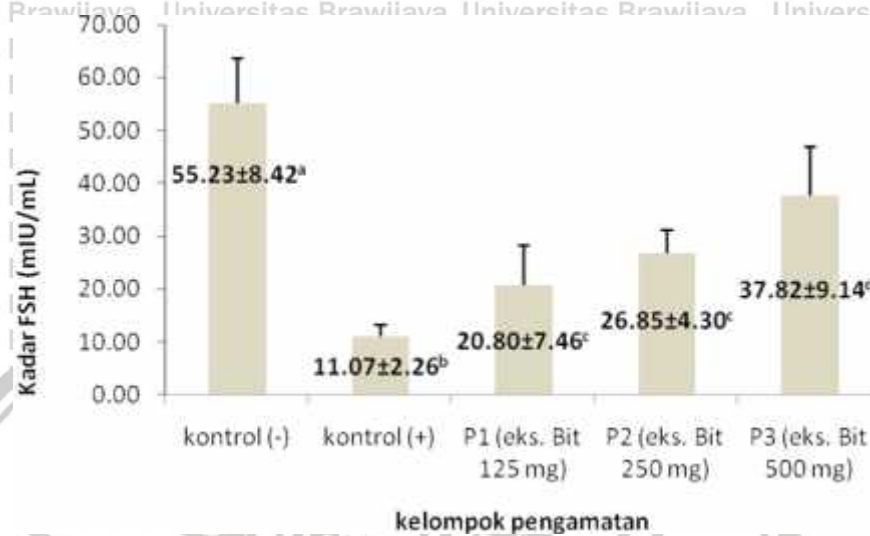
Demikian pula antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (11.07 ± 2.26^b ng/mL) dengan kelompok P2 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 250 mg/KgBB/hari (26.85 ± 4.30^c ng/mL) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH. Tampak nilai rerata kadar FSH kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata kadar FSH pada kelompok P2. Hal ini berarti bahwa tikus dengan pemberian perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari akan meningkatkan kadar FSH bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak

Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan kadar FSH.

Masih hasil di Tabel 5.3 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar FSH antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (11.07 ± 2.26^b ng/mL) dengan kelompok P3 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 500 mg/KgBB/hari (37.82 ± 9.14^d ng/mL). Tampak nilai rerata kadar FSH kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata kadar FSH pada kelompok P3. Hal ini berarti bahwa tikus dengan pemberian perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari akan meningkatkan kadar FSH bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan kadar FSH.

Berdasarkan penjelasan hasil dari Tabel 5.3 di atas maka dapat diartikan bahwa perlakuan pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dosis yang sebelumnya telah terpapar asap rokok berpengaruh bermakna terhadap peningkatan kadar FSH. Jadi hipotesis penelitian pertama terbukti, yaitu Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan kadar FSH pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang di paparkan asap rokok.

Selanjutnya rerata kadar FSH pada kelima kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini.



Gambar 5.3 Histogram rerata kadar FSH

Pada Gambar 5.3 menunjukkan histogram rerata kadar FSH pada tikus *Rattus norvegicus* yang tidak diberi apapun (kontrol negatif), tikus *Rattus norvegicus* dipapar dengan asap rokok (kontrol positif), dan 3 kelompok tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok dan pemberian ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L.*) dengan dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari. Tampak rerata kadar FSH tertinggi pada kelompok kontrol negatif.

Hal ini berarti bahwa tikus sehat akan menunjukkan kadar FSH yang tinggi bila dibandingkan dengan tikus yang mendapatkan perlakuan. Selanjutnya rerata kadar FSH tampak menurun bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan meningkat kembali pada kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari. Peningkatan kadar FSH seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L.*) yang diberikan. Jadi pemberian ekstrak etanol bit

merah (*Beta vulgaris L.*) ketiga dosis tersebut mampu meningkatkan kadar FSH pada tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok sebelumnya. Sedangkan dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L.*) yang dianggap paling cepat mampu menurunkan kadar FSH adalah dosis 500 mg/KgBB/hari. Karena rerata kadar FSH kelompok P3 nilainya lebih dekat pada kelompok kontrol negatif.

5.4 Hasil uji perbandingan jumlah folikel primer

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data jumlah folikel primer diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel primer kelima kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ (Lampiran 4). Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) diperoleh secara lengkap disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.4 Perbandingan jumlah folikel primer

Kelompok pengamatan	Rerata \pm SD	p-value
kontrol negatif	10.6 \pm 2.07 ^a	0.000 < α
kontrol positif	7.2 \pm 0.84 ^b	
P1 (eks. Bit 125 mg/KgBB/hari)	8.4 \pm 1.14 ^{bc}	
P2 (eks. Bit 250 mg/KgBB/hari)	10 \pm 1.00 ^{ac}	
P3 (eks. Bit 500 mg/KgBB/hari)	11.6 \pm 1.34 ^a	

Keterangan: Pada rerata \pm sd menunjukkan hasil uji LSD jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} < 0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} > 0.05$).

Tampak pada Tabel 5.4 berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel primer pada ovarium antara kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan)

(10.6 ± 2.07^a) dengan kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (7.2 ± 0.84^b). Nilai rerata jumlah folikel primer kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel primer pada kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok akan menurunkan jumlah folikel primer bila dibandingkan dengan tikus yang sehat. Dengan kata lain paparan asap rokok pada tikus *Rattus norvegicus* dapat menurunkan jumlah folikel primer pada ovarium. Demikian pula rerata jumlah folikel primer kelompok kontrol negatif (10.6 ± 2.07^a) berbeda bermakna dengan kelompok P1 (8.4 ± 1.14^{bc}), tetapi tidak berbeda bermakna dengan kelompok P2 (10 ± 1.00^{ac}) dan dengan kelompok P3 (11.6 ± 1.34^a). Tampak nilai rerata pada kelompok kontrol negatif berdekatan dengan nilai rerata kelompok P2 dan kelompok P3.

Hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* juga menjelaskan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel primer pada ovarium antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (7.2 ± 0.84^b) dengan kelompok P1 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) dosis 125 mg/KgBB/hari (8.4 ± 1.14^{bc}). Tampak nilai rerata jumlah folikel primer kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel primer pada kelompok P1. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel primer bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Berarti paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel primer.

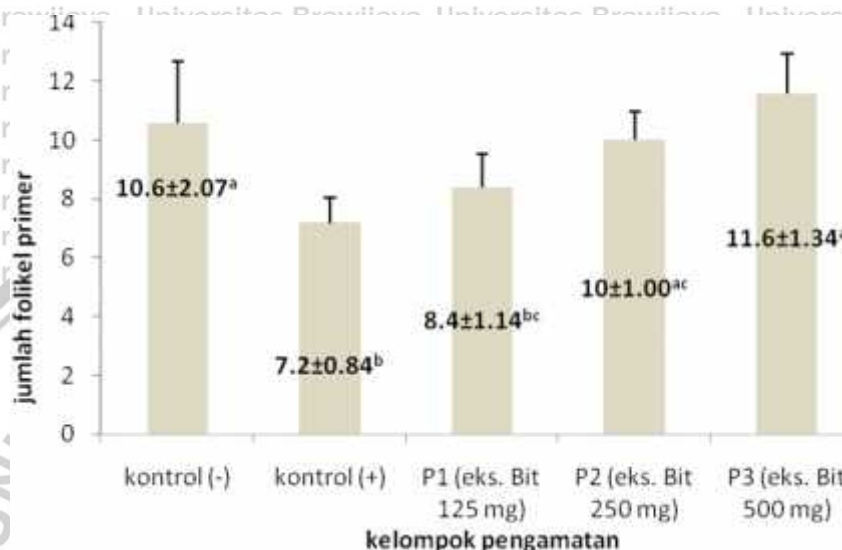
Hasil analisis *LSD* pada Tabel 5.4 menjelaskan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel primer antara kelompok kontrol positif (7.2 ± 0.84^b)

dengan kelompok P2 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 250 mg/KgBB/hari (10 ± 1.00^{ac}). Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel primer bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel primer.

Masih hasil di Tabel 5.4 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel primer antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (7.2 ± 0.84^b) dengan kelompok P3 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 500 mg/KgBB/hari (11.6 ± 1.34^a). Tampak nilai rerata jumlah folikel primer kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel primer pada kelompok P3. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel primer bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Jadi paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel primer.

Berdasarkan penjelasan hasil dari Tabel 5.4 di atas maka dapat diartikan bahwa perlakuan pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* yang sebelumnya telah terpapar asap rokok berpengaruh bermakna terhadap peningkatan jumlah folikel primer. Jadi hipotesis penelitian kedua terbukti, yaitu Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan perkembangan folikel pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipaparkan asap rokok.

Selanjutnya rerata jumlah folikel primer pada kelima kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini.



Gambar 5.4 Histogram rerata jumlah folikel primer

Pada Gambar 5.4 menunjukkan histogram rerata jumlah folikel primer pada tikus yang tidak diberi apapun (kontrol negatif), tikus dengan paparan asap rokok (kontrol positif), dan 3 kelompok tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok dan pemberian ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L.*) dengan dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari. Tampak rerata jumlah folikel primer terendah pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa paparan asap rokok pada tikus menurunkan jumlah folikel primer. Sedangkan rerata jumlah folikel primer pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 tampak meningkat bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Peningkatan jumlah folikel primer pada ovarium tikus *Rattus norvegicus* seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L.*).

5.5 Hasil uji perbandingan jumlah folikel sekunder

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data jumlah folikel sekunder diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel sekunder kelima kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ (Lampiran 6). Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/ BNT (*Least Significant Difference/LSD*) disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.5 Perbandingan jumlah folikel sekunder

Kelompok pengamatan	Rerata \pm SD	p-value
kontrol negatif	8.4 \pm 1.67 ^a	0.000 < α
kontrol positif	4.8 \pm 0.84 ^b	
P1 (eks. Bit 125 mg/KgBB/hari)	6.2 \pm 0.84 ^{bc}	
P2 (eks. Bit 250 mg/KgBB/hari)	7.4 \pm 1.14 ^{ac}	
P3 (eks. Bit 500 mg/KgBB/hari)	8.8 \pm 0.84 ^a	

Keterangan: Pada rerata \pm sd menunjukkan hasil uji LSD jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} < 0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} > 0.05$).

Tampak pada Tabel 5.5 berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel sekunder pada ovarium antara kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan) (8.4 \pm 1.67^a) dengan kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (4.8 \pm 0.84^b). Tampak nilai rerata jumlah folikel sekunder kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel sekunder pada kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok akan menurunkan jumlah folikel sekunder bila dibandingkan dengan tikus yang sehat. Dengan kata lain

paparan asap rokok pada tikus *Rattus norvegicus* dapat menurunkan jumlah folikel sekunder pada ovarium. Demikian pula rerata jumlah folikel sekunder kelompok kontrol negatif (8.4 ± 1.67^a) berbeda bermakna dengan kelompok P1 (6.2 ± 0.84^{bc}), tetapi tidak berbeda bermakna dengan kelompok P2 (7.4 ± 1.14^{ac}) dan kelompok P3 (8.8 ± 0.84^a). Tampak nilai rerata pada kelompok kontrol negatif sangat dekat dengan nilai rerata kelompok P2 dan P3.

Hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* juga menjelaskan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel sekunder pada ovarium antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (4.8 ± 0.84^b) dengan kelompok P1 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 125 mg/KgBB/hari (6.2 ± 0.84^{bc}). Tampak nilai rerata jumlah folikel sekunder kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel sekunder pada kelompok P1. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel sekunder bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 125 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel sekunder.

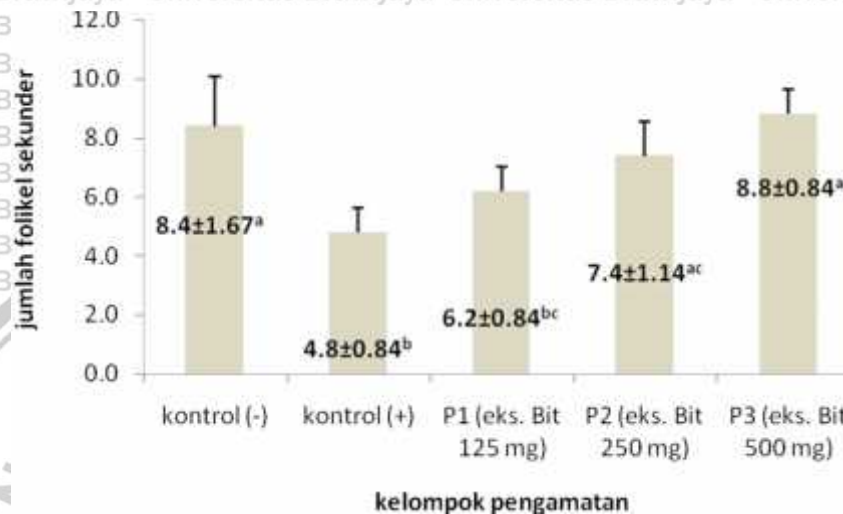
Hasil analisis *LSD* pada Tabel 5.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel sekunder antara kelompok kontrol positif (4.8 ± 0.84^b) dengan kelompok P2 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 250 mg/KgBB/hari (7.4 ± 1.14^{ac}). Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel sekunder bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak

Etanol Bit Merah 250 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel sekunder.

Masih hasil di Tabel 5.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah folikel sekunder antara kelompok kontrol positif (tikus dengan paparan asap rokok) (4.8 ± 0.84^b) dengan kelompok P3 atau kelompok perlakuan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) dosis 500 mg/KgBB/hari (8.8 ± 0.84^a). Tampak nilai rerata jumlah folikel sekunder kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah folikel primer pada kelompok P3. Hal ini berarti bahwa tikus dengan paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari akan meningkatkan jumlah folikel sekunder bila dibandingkan dengan tikus yang terpapar asap rokok saja. Dengan kata lain paparan asap rokok + Ekstrak Etanol Bit Merah 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* dapat meningkatkan jumlah folikel sekunder.

Berdasarkan penjelasan hasil dari Tabel 5.5 di atas maka dapat diartikan bahwa perlakuan pemberian Ekstrak Etanol Bit Merah dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari pada tikus *Rattus norvegicus* yang sebelumnya telah terpapar asap rokok berpengaruh bermakna terhadap peningkatan jumlah folikel sekunder. Jadi hipotesis penelitian kedua terbukti, yaitu pemberian ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*) menyebabkan peningkatan jumlah folikel sekunder tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok.

Selanjutnya rerata jumlah folikel sekunder pada kelima kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini.



Gambar 5.5 Histogram rerata jumlah folikel sekunder

Pada Gambar 5.5 menunjukkan histogram rerata jumlah folikel sekunder pada tikus yang tidak diberi apapun (kontrol negatif), tikus dengan paparan asap rokok (kontrol positif), dan 3 kelompok tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok dan pemberian ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*) dengan dosis 125 mg/KgBB/hari, dosis 250 mg/KgBB/hari, dan dosis 500 mg/KgBB/hari. Tampak rerata jumlah folikel sekunder terendah pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa paparan asap rokok pada tikus menurunkan jumlah folikel sekunder.

Sedangkan rerata jumlah folikel sekunder pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 tampak meningkat bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Peningkatan jumlah folikel sekunder pada ovarium tikus *Rattus norvegicus* kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*) yang diberikan.

5.6 Hasil uji korelasi

Uji korelasi adalah suatu uji untuk mengetahui tingkat keeratan hubungan dua variabel. Pada penelitian ini ingin diketahui tingkat keeratan hubungan antara dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*), kadar FSH, jumlah folikel primer, dan jumlah jumlah folikel sekunder pada ovarium. Pada data dosis ekstrak etanol bit merah tidak menunjukkan bahwa data berdistribusi normal (Lampiran 5), sehingga data dosis dianalisis dengan menggunakan uji korelasi *Spearman's rho*. Adapun kriteria keputusan pada uji korelasi *Spearman's rho*, bila $p\text{-value} < 0.05$ maka ada hubungan/korelasi yang bermakna dan bila $p\text{-value} > 0.05$ maka ada hubungan/korelasi yang tidak bermakna. Adapun hasil pada uji korelasi *Spearman's rho* ditunjukkan secara ringkas pada tabel di bawah ini (sumber Lampiran 6).

Tabel 5.6 Hasil uji korelasi

Variabel yang dihubungkan	Koefisien Korelasi (r)	Arti	p-value
Dosis dengan kadar FSH	0.727	Korelasi kuat	0.002
Dosis dengan jmh jumlah folikel primer	0.789	Korelasi kuat	0.000
Dosis dengan jmh jumlah folikel sekunder	0.791	Korelasi kuat	0.000
Kadar FSH dengan jml jumlah folikel primer	0.705	Korelasi kuat	0.000
Kadar FSH dengan jml jumlah folikel sekunder	0.784	Korelasi kuat	0.000

Keterangan: Pada kolom $p\text{-value}$ jika $p\text{-value} < 0.05$ berarti ada korelasi yang bermakna dan jika $p\text{-value} > 0.05$ berarti ada korelasi yang tidak bermakna.

Pada Tabel 5.6 menunjukkan bahwa ada hubungan/korelasi yang bermakna antara dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*) dengan kadar FSH ($p\text{-value} = 0.002 < \alpha$) pada kelompok perlakuan pemberian paparan asap rokok + ekstrak

etanol bit merah (*Beta vulgaris L*) (n=15) dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan atau nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0.727$. Nilai positif pada koefisien korelasi 0.727 menjelaskan adanya hubungan yang seiring, yaitu bila pemberian dosis ekstrak etanol bit merah (*Beta vulgaris L*.) ditingkatkan maka akan berakibat terjadi peningkatan kadar FSH pada tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok. Demikian pula sebaliknya, bila dosis diturunkan maka kadar FSH akan meningkat sedikit.

Tabel 5.6 menjelaskan pula bahwa ada hubungan yang bermakna antara dosis ekstrak etanol bit merah dengan jumlah folikel primer pada ovarium ($p\text{-value}=0.000<\alpha$) dengan ditunjukkan nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0.789$. Nilai positif pada koefisien korelasi 0.789 menjelaskan adanya hubungan yang seiring, yaitu bila dosis ekstrak etanol bit merah ditingkatkan maka akan berakibat terjadi peningkatan jumlah folikel primer pada ovarium pada tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok, demikian pula sebaliknya. Demikian pula ada hubungan yang bermakna antara dosis ekstrak etanol bit merah dengan jumlah folikel sekunder pada ovarium ($p\text{-value}=0.000<\alpha$) dengan ditunjukkan nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0.791$. Nilai positif pada koefisien korelasi 0.791 menjelaskan adanya hubungan yang seiring, yaitu bila pemberian dosis ekstrak etanol bit merah ditingkatkan maka akan berakibat terjadi peningkatan jumlah folikel sekunder pada ovarium pada tikus *Rattus norvegicus* yang dipapar asap rokok, demikian pula sebaliknya. Jadi hipotesis yang ketiga terbukti, yaitu ada hubungan dosis Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L*) yang diberikan dengan kadar FSH maupun dengan jumlah folikulogenesis.

Pada Tabel 5.6 menunjukkan pula bahwa ada hubungan yang bermakna antara kadar FSH dengan jumlah folikel primer pada ovarium ($p\text{-value}=0.000<\alpha$) dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan atau nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0.705$. Nilai positif pada koefisien korelasi 0.705 menjelaskan adanya hubungan yang seiring, yaitu bila terjadi peningkatan kadar FSH maka akan berakibat terjadi peningkatan jumlah folikel primer pada ovarium pada tikus *Rattus norvegicus* sebagai efek dari perlakuan paparan asap rokok + ekstrak etanol bit merah, demikian pula sebaliknya. Selanjutnya ada pula hubungan yang bermakna antara kadar FSH dengan jumlah folikel sekunder pada ovarium ($p\text{-value}=0.000<\alpha$) dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan atau nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0.784$. Nilai positif pada koefisien korelasi 0.784 menjelaskan adanya hubungan yang seiring, yaitu bila terjadi peningkatan kadar FSH maka akan berakibat terjadi peningkatan jumlah folikel sekunder pada ovarium pada tikus *Rattus norvegicus* sebagai efek dari perlakuan paparan asap rokok + ekstrak etanol bit merah. Demikian pula sebaliknya, bila kadar FSH turun maka jumlah folikel sekunder pada ovarium akan menurun pula.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina

6.1.1 Pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar FSH serum pada tikus putih betina

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa antara kelompok kontrol positif (yang dipapar asap rokok 2 batang per hari dan tidak diberikan Bit merah (*Beta vulgaris L*)) menunjukkan kadar FSH serum pada kelompok kontrol positif menurun secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Armstrong (2010) menyatakan bahwa terhambatnya produksi hormon FSH dapat disebabkan oleh stres oksidatif karena asap rokok melalui penghambat pulsasi GnRH melalui GABA, receptor sistem yang menyebabkan gangguan pada sintesis dan sekresi *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) maupun *Luteinizing Hormone* (LH).

Asap rokok merupakan radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa oksigen reaktif yang merupakan senyawa dengan elektron yang tidak berpasangan. Senyawa atau atom tersebut berusaha mencapai keadaan stabil dengan jalan menarik elektron lain sehingga terbentuk radikal baru. Reaksi radikal bebas ini berlangsung secara berantai (*cascade reaction*) sehingga dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif baik secara langsung maupun tidak langsung (Kelly, 2002). Akibat stres oksidatif yang meningkat, maka akan terjadi peroksida lipid yang dapat menjadikan kerusakan pada *nukleus arkuata* dan *nukleus ventromedial* di hipotalamus sehingga mengakibatkan gangguan sintesis dan sekresi GnRH hipotalamus. Kegagalan ini akan menyebabkan kegagalan hipofisis untuk melakukan sintesis dan sekresi FSH dan LH (Giovansbastista, 2003). Jumlah asap

rokok yang berlebih masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi akan menyebabkan stres oksidatif pada otak sehingga berakibat pada degenerasi dari sel-sel di otak yang menyebabkan kerusakan dari hipotalamus sehingga kadar hormon GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) akan menurun dan akan berdampak pada penurunan kadar hormon FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) yang akan mengganggu perkembangan sel granulosa dan jumlah folikel ovarium. Hal tersebut akan menyebabkan gangguan pada fungsi ovarium dan dapat mengakibatkan infertilitas (Liputo, 2006).

Hipofisis anterior memproduksi sendiri hormon tropik di bawah kendali regulasi hipotalamus. Terdapat lima jenis sel kecil pada hipofisis anterior yang berhubungan dengan produksi hormon tropik, yaitu gonadotropin, laktoperin, somatotropin, tiotropin dan kortikotropin. Sel-sel spesifik ini bertanggung jawab terhadap produksi dan sekresi hormon FSH, LH, prolactin, TSH, GH, dan ACTH. Berkurangnya kadar FSH dan LH di dalam darah berdampak pada tidak memadainya hormon FSH dan LH untuk mendukung perkembangan folikel dan gonad (Heffner and Schust, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian dan kajian teori yang telah dipaparkan tersebut maka penelitian ini membuktikan hipotesis penelitian bahwa asap rokok menurunkan kadar FSH Pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*).

6.1.2 Pengaruh paparan asap rokok terhadap Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif (yang dipapar asap rokok 2 batang perhari dan tidak diberikan Bit merah (*Beta vulgaris L.*)) menunjukkan Folikulogenesis (jumlah Folikel Primer dan jumlah folikel Sekunder) ovarium pada kelompok kontrol

positif menurun secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Martheni (2009) yaitu pemaparan asap rokok pada tikus putih betina selama 8 minggu menyebabkan gangguan Folikulogenesis. Berbagai penelitian juga telah membuktikan bahwa konsentrasi komponen asap rokok menumpuk pada organ reproduksi wanita (Agarwi, 2012) seperti gas karbonmonoksida, nitrogen oksida, hidrogen sianida, benzene, arsenic, di mana polisiklik aromatik hidrokarbon, benzo(a)pyrene, nikotin, kadmium merupakan xenobiotic bagi tubuh yang diketahui mempengaruhi sistem reproduksi (Connie et al., 2011).

Asap rokok mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif baik secara langsung ataupun tidak langsung yang akan membentuk peroksida lipid. Peroksida lipid dan terjadi pada hipotalamus yang akan menghambat sekresi FSH (Kelly, 2002,). FSH memiliki peran penting pada siklus ovarium dan perkembangan folikel yang akan menstimulasi perubahan pada sel granulosa yaitu mengubah androstendione menjadi estradiol oleh enzim aromatase. Terhambatnya FSH akan berakibat pada gangguan reseptor FSH pada sel granulosa, sehingga sel granulosa tidak dapat berkembang dengan baik. tidak berkembangnya sel granulosa akan berpengaruh pada perkembangan folikel pada ovarium (Saddler, 2009).

Selain mengganggu hormon FSH, stres oksidatif yang disebabkan oleh asap rokok dapat menghasilkan instabilitas kromosom dan program kematian sel (apoptosis) baik pada sel granulosa ataupun oosit (Asadi, 2012). Asap rokok menyebabkan malfungsi molekul-molekul dan organel-organel penting dari sel seperti DNA, lipid protein, dan mitokondria, serta peningkatan peroksidasi lipid pada ovarium. Peroksidasi lipid yang terjadi pada ovarium akan terbentuk dalam rantai

yang semakin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel termasuk membran sel folikel folikel ovarium dan membran plasma sel granulosa (Agarwal *et al.*, 2012). Produk akhir peroksidasi lipid, yaitu

Malondialdehyde (MDA) yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh (PUFA) yang bersifat toksik terhadap sel (Halliwell and Gutteridge, 2007; Tandon *et al.*, 2005). Peningkatan kadar MDA ovarium menyebabkan kematian sel-sel granulosa, dan berdampak pada terhambatnya proses Folikulogenesis, termasuk pada penurunan jumlah sel granulosa dan jumlah folikel yang dihasilkan (Gannon, 2013).

Penelitian lain tentang senyawa cadmium pada asap rokok diketahui menyebabkan retraksi sitoplasma pada media kultur sel-sel granulosa folikel manusia (Dechanet *et al.*, 2011). Percobaan *in vitro* pada sel-sel granulosa folikel tikus membuktikan cadmium juga menghambat aktivitas SOD (Nampoothiri *et al.*, 2007). Cadmium juga mengurangi pertumbuhan folikel dan menambah jumlah oosit yang atresia pada ovarium katak Afrika (Lienesch *et al.*, 2000).

Benzo(a)pyrene (BaP) dan metabolit – metabolitnya merupakan *xenobiotic* lain pada asap rokok yang dapat mengurangi jumlah folikel di semua fase dan mengurangi berat ovarium tikus putih (Dechanet *et al.* 2011). BaP juga menurunkan jumlah folikel pada media kultur ovarium tikus putih (Tuttle *et al.* 2009). Penelitian pada kompleks cumulus oosit manusia, diketahui bahwa BaP menghambat pertumbuhan folikel dan mengurangi sintesis estradiol (Neal *et al.*, 2007).

ROS yang meningkat pada organ ovarium akan menyebabkan merusak pada mitokondria sel folikel. Kerusakan ini akan menyebabkan terjadinya opoptosis pada folikel ovarium termasuk pada sel granulosa folikel ovarium. Sel granulosa folikel akan mengalami apoptosis sehingga akan menurunkan jumlah sel granulosa

pada folikel ovarium. Menurutnya jumlah sel granulosa ini memiliki hubungan yang sejalan dengan terhambatnya pematangan folikel ovarium (Ganoon, 2013)

Pada penelitian ini menunjukan folikel yang sangat dipengaruhi oleh radiakal bebas yang berasal dari asap rokok adalah folikel De Graaf, selain dari segi statistik penelitian yang menunjukan perbedaan yang bermakna, juga didukung dengan gambaran mikrokospis dari masing – masing folikel ovarium. Berdasarkan hasil penelitian dan kajian teori yang telah dipaparkan tersebut maka penelitian ini dibuktikan hipotesis penelitian bahwa asap rokok menurunkan jumlah Folikel Primer dan Folikel Sekunder Ovarium pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*).

6.2 Pengaruh Bit merah (*Beta vulgaris L*) terhadap kadar FSH pada tikus putih betina yang dipapar asap rokok.

Pemberian Bit merah (*Beta vulgaris L*) dengan beberapa level dosis pada penelitian ini menunjukan bahwa terhadap peningkatan kadar FSH daripada kelompok kontrol positif dan pada dosis Bit merah (*Beta vulgaris L*) 500 mg / kgBB didapatkan terata kadar FSH paling tinggi daripada dosis yang lain. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa dosis Bit merah (*Beta vulgaris L*) yang lebih cepat meningkatkan kadar FSH serum pada tikus putih betina yang dipapar asap rokok adalah dosis 500 mg / kgBB (perlakuan A3) dibandingkan dosis Bit merah (*Beta vulgaris L*) 125 mg/kgBB dan dosis 250 mg/kgBB. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian AL-Olayan (2014) tentang pengaruh jus buah delima yang mengandung flavonoid termasuk Bit merah (*Beta vulgaris L*) dapat meningkatkan kadar FSH serum secara signifikan pada tikus jantan yang dipapar pada radikal bebas carbon tetrachloride. Hal ini sesuai juga dengan penelitian Sa'adeya (2014) tentang pengaruh polifenol teh hijau yang merupakan boiaktif sejenis dengan Bit merah (*Beta vulgaris L*) pada tikus betina yang mengalami stres oksidatif

menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar FSH pada tikus putih yang mengalami stres oksidatif.

Antioksidan endogen merupakan antioksidan secara alami berada dalam sel manusia diantaranya adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathione peroxidase (GPx). Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari tubuh, berasal dari makanan sehari – hari seperti vitamin – vitamin (vitamin c, vitamin b, b-karoten), dan senyawa fitokimia (karetenoid, isoflavan, saponin, polifenol termasuk betalain). Pertahanan sel terhadap spesies oksigen reaktif (ROS) melalui mekanisme reduksi enzimatis pengeluaran oleh senyawa fitokimia sebagai antioksidan eksogen, perbaikan membran dan DNA yang rusak oleh enzim dan kompartementasi. Betalain yang merupakan antioksidan eksogen bersifat neuroprotektif karena dapat menangkap ROS dan mampu mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid pada otak (driseitel, 2011). Bit merah (*Beta vulgaris L*) merupakan golongan polifenol sebagai antioksidan juga dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas yang terjadi di hipotalamus (Huy,et al, 2008). Selain itu Bit merah (*Beta vulgaris L*) yang juga termasuk ke dalam kelompok flavonoid dapat berperan dalam mengurangi hormon stres, seperti kortison yang berdampak pada peningkatan hormon seks (FSH dan LH) (Hong et al, 2008). Flavonoid juga akan berperan dalam mengurangi pembentukan dan aktivitas dari radikal bebas, mengikat radikal bebas sehingga terjadi senyawa yang lebih stabil, dan sebagai inhibitor reaksi autooksidasi sehingga dapat menurunkan peroksidasi lipid yang terjadi pada hipotalamus yang berdampak pada pencegahan penurunan sekresi hormon FSH (Chua, 2013).

Berdasarkan hasil penelitian dan kajian teori yang telah dipaparkan tersebut maka penelitian ini membuktikan hipotesis penelitian bahwa Bit merah (*Beta vulgaris*

L) dapat meningkatkan kadar FSH pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok.

6.3 Pengaruh Bit merah (*Beta vulgaris L*) terhadap Jumlah Folikel pada tikus putih betina yang dipapar asap rokok

Pemberian Bit merah (*Beta vulgaris L*) dengan rerata jumlah folikel primer dan Folikel sekunder lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa dosis Bit merah (*Beta vulgaris L*) yang lebih cepat meningkatkan jumlah folikel primer dan folikel sekunder pada tikus betina yang dipapar asap rokok adalah dosis 500 mg/kgBB (perlakuan A3) dibandingkan dosis 125 mg/kgBB dan dosis 250 mg/kgBB. Hasil penelitian ini sesuai dengan Habibeh (2014) yaitu pemberian terapi polifenol (teh hijau) pada tikus betina yang mengalami stres oksidatif meningkatkan jumlah folikel ovarium.

Bit merah (*Beta vulgaris L*) dapat menangkap ROS sehingga mencegah peroksidasi lipid pada otak, hal ini merupakan salah satu sifat dari Bit merah (*Beta vulgaris L*) yaitu neuroprotektif (Dreiseitel, 2011). Tidak terjadinya stres oksidatif pada otak akan berdampak pada peningkatan hormon seks (FSH dan LH) (Hong *et al.*, 2008). FSH memiliki peranan yang sangat penting dalam terjadinya mekanisme seleksi dan perkembangan folikel menjadi folikel dominan. Mekanisme utama dari kontrol FSH adalah dengan merangsang jalur transduksi reseptor FSH pada sel-sel granulosa (Guyton, 2008).

Bit merah (*Beta vulgaris L*) berfungsi sebagai antioksidan dengan cara mereduksi radikal bebas, mendonorkan elektronnya pada radikal bebas dapat meningkatkan The Total Antioxidation Capacity (T-AOC) yaitu antioksidan enzimatik dalam tubuh (SOD dan GSH-PX) dan menurunkan kadar MDA sehingga tidak terjadi

stres oksidatif pada organ tubuh; termasuk ovarium yang akan mempengaruhi proses perkembangan folikel (Tumer, 2009, Zhao, 2013).

Bit merah (*Beta vulgaris L*) adalah flavonoid dengan cincin C yang tidak jenuh dan hidroksil pada dosis 3. Struktur dasarnya adalah aglikon, atau antosianidin, dengan satu atau lebih gula sebagian besar berikatan di C3, C5, atau C7 (Iwashina, 2000). Bit merah (*Beta vulgaris L*) merupakan antioksidan yang poten karena memiliki kemampuan secara cepat untuk mereduksi spesies oksigen dan merubahnya menjadi radikal aryloxyl yang lebih stabil (Khkonen and Heinonen, 2003, Moran et al. 1997). Hal tersebut didukung oleh penelitian yang membuktikan bahwa Bit merah (*Beta vulgaris L*) dapat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada vitamin E, vitamin C dan betakaroten (Galvano et al. 2004).

Berdasarkan hasil penelitian dan kajian teori yang telah dipaparkan tersebut maka penelitian ini membuktikan hipotesis penelitian bahwa Bit merah (*Beta vulgaris L*) dapat meningkatkan jumlah folikel pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dipapar asap rokok.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini adalah :

Target utama dari Asap rokok ini adalah otak, namun sebenarnya Asap rokok juga dapat menyebabkan kerusakan pada organ target langsung yaitu organ reproduksi.

Penelitian ini belum diteliti lebih lanjut mengenai jalur Asap rokok yang dapat menyebabkan kerusakan langsung pada organ reproduksi sehingga belum diketahui jalur mana yang paling berpengaruh menyebabkan terjadinya penurunan kadar FSH dan penurunan proses Folikulogenesis.

6.5 Implementasi Kebidanan

Penelitian ini belum dapat diimplementasikan pada manusia, karena penelitian ini masih merupakan penelitian awal yang hanya masih bisa diterapkan pada tikus.

Untuk dapat diimplementasikan pada manusia masih harus melalui beberapa tahapan, yaitu. Uji Toksisitas Akut , Uji Toksisitas Sub Akut, Uji Toksisitas Kronik, Uji Efek Pada Organ Reproduksi, Uji Karsinogenik, Uji Mutagenik, Sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan waktu yang lebih lama.



BAB 7 PENUTUP

7.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan pada penelitian pengaruh Bit merah (*Beta vulgaris L*) terhadap kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 7.1.1 Pemberian paparan asap rokok menurunkan kadar FSH dan Folikulogenesis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok.
- 7.1.2 Pemberian Bit merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan kadar FSH pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok pada dosis 500mg
- 7.1.3 Pemberian Bit merah (*Beta vulgaris L*) meningkatkan jumlah folikel primer dan folikel sekunder, pada Ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok pada dosis 500mg.

7.2 SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan perubahan di atas maka disarankan beberapa hal sebagai berikut :

- 7.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjutan tentang pengaruh Bit merah (*Beta vulgaris L*) terhadap kadar LH serum dan faktor apoptosis pada ovarium
- 7.2.2 Perlu dilakukan penelitian penelitian lebih lanjutan tentang pengaruh Bit merah (*Beta vulgaris L*) dengan variasi dosis yang lebih banyak untuk menentukan dosis yang benar benar optimal untuk menangkal radikal bebas penyebab stres oksidasi.